

**Haut- und Nierentransplantationen
in den Speziessystemen
Fuchs – Hund, Dingo – Hund
und Wolf – Hund**

Versuch einer Kombinationstherapie von
Antilymphocytenglobulin und Antimakrophagenserum
im Transplantationssystem Fuchs – Hund

Hans Pongratz

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554611_0070

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung

(Prof. Dr. Dr. h. c. Brendel)

An der Chirurgischen Klinik der Universität München

(Prof. Dr. Heberer)

Haut- und Nierentransplantationen in den Speziessystemen

F u c h s - H u n d, D i n g o - H u n d

und W o l f - H u n d

Versuch einer Kombinationstherapie von

Antilymphocytenglobulin und Anti-

makrophagenserum im Transplan-

tationssystem Fuchs - Hund

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Hans Pongratz

aus München

München 1975

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. Dr. h. c. W. Brendel

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 10. 2. 76



Einleitung

Seite

1. Einleitung

1

2. Einleitung

2

3. Einleitung

3

4. Einleitung

4

5. Einleitung

5

6. Einleitung

6

7. Einleitung

7

8. Einleitung

8

Gewidmet meinen lieben Eltern und meiner Frau.

9. Einleitung

9

10. Einleitung

10

11. Einleitung

11

12. Einleitung

12

13. Einleitung

13

14. Einleitung

14

15. Einleitung

15

16. Einleitung

16

17. Einleitung

17

18. Einleitung

18

19. Einleitung

19

20. Einleitung

20

21. Einleitung

21

22. Einleitung

22

23. Einleitung

23

24. Einleitung

24

25. Einleitung

25

	Inhaltsverzeichnis	Seite
1	<u>Einleitung</u> =====	1
2	<u>Material und Methoden der Transplantationen</u> =====	7
2.1	<u>Verwendete Tiere</u>	7
2.2	<u>Hauttransplantation im System Fuchs-Hund, Wolf-Hund und Dingo-Hund</u>	7
2.3	<u>Methodik der Nierentransplantation</u>	8
2.4	<u>AMS-Gewinnung</u>	10
2.5	<u>ALG-Gewinnung</u>	11
2.6	<u>Untersuchungen</u>	12
2.6.1	<u>Bestimmungen im Vollblut</u>	12
2.6.2	<u>Bestimmungen im Serum und Urin</u>	19
2.6.3	<u>Nierenfunktionstest (¹³¹J-ortho- Jodhippursäure Clearance)</u>	21
2.6.4	<u>Histologie</u>	22
2.7	<u>Versuchsanordnung</u>	24
3	<u>Ergebnisse</u> =====	25
3.1	<u>Ergebnisse der genetischen Merkmale der Systeme</u> <u>Fuchs-Hund</u> <u>Dingo-Hund</u> <u>Wolf- Hund</u>	25
3.1.1	<u>Ergebnisse der Chromosomentestung</u>	25
3.1.2	<u>Tissue-Typing</u>	27
3.1.3	<u>Ergebnisse der Erythrocytentestung von Fuchs, Dingo und Hund</u>	35

3.1.4	<u>Ergebnisse der Immunelektrophorese</u>	36
3.2	<u>Ergebnisse der Hauttransplantationen</u>	39
3.3	<u>Ergebnisse der Nierentransplantationen im System Fuchs-Hund</u>	40
3.3.1	<u>Behandlung mit Pferdegamma globulin (PIgG) nach Nierentransplantation</u>	41
3.3.2	<u>Behandlung mit Antilymphocytenglobulin (ALG) und Antimakrophagen-serum (AMS) nach Nierentransplantation</u>	56
3.4	<u>Nierentransplantation im "semixenogenen" System</u>	69
3.4.1	<u>Transplantationsergebnis von Dingenieren auf Beagles</u>	69
3.4.2	<u>Transplantationsergebnisse von Wolfsnieren auf Schäferhundbastarde</u>	81
4	Diskussion =====	95
5	Zusammenfassung =====	115
6	Literaturverzeichnis =====	117
7	Anhang =====	136

Verwendete Abkürzungen

ALG	Antilymphocytenglobulin
AMS	Antimakrophagenserum
PIgG	Pferdegammaglobulin
PNAK	praeformierte natürliche Antikörper
Ag-AK	Antigen- Antikörper
SVT	Survival time (Überlebenszeit)
CEA	Canine erythrocyte antigens (Blutgruppe)
MLC	Mixed lymphocyte culture
DL-A	Dog lymphocyte antigen
SD-Antigene	Serological defined antigens
LD-Antigene	Lymphocyte defined antigens
bl	blank
Hk	Hämatokrit
KG	Körpergewicht
n	Anzahl der Versuchstiere
g	$9,81 \text{ m/sec}^2$ (Erdbeschleunigung)
U	Umdrehungen
h	Stunde
$\bar{x}$	Mittelwert
$s_{\bar{x}}$	Standardabweichung des Mittelwertes
ND	not done (nicht durchgeführt)
NT	not tested (nicht getestet)

In den graphischen Darstellungen wurden als Titerstufen die Potenzen zur Basis 2 angegeben.

1 Einleitung

=====

Auf dem medizinischen Kongreß in Wien 1902 konnte Ullmann (113) zum ersten Mal über eine geglückte Allotransplantation von Hundenieren in die Leistengegend berichten. Wenige Jahre später gelang Carell (20) eine Nierenverpflanzung im allogenen System Hund-Hund. In diesem Falle wurde die Anastomosierung am Hals durchgeführt.

Mit dieser neuen Methode versuchte man schon zu Beginn dieses Jahrhunderts bei todkranken Patienten eine Transplantation speziesfremder, d.h. xenogener Nieren.

1905 Princeteau (96)

Implantation von Kaninchennierenteilen in insuffiziente Menschennieren.

1906 Jaboulay (58)

Transplantation von Schweine- bzw. Ziegen-
nieren auf den Menschen.

1910 Unger (114)

Systematische Untersuchungen im Bereich der xenogenen Transplantation auf den Menschen. Er fand, daß Affenblut in den menschlichen Gefäßen flüssig blieb. Seine erste Transplantation führte er mit Schweinsaffennieren durch.

1923 Neuhof (80)

Führte ähnliche Versuche wie Jaboulay durch, berichtete aber nur von Mißerfolgen.

1924 Avramovici (6)

Er transplantierte im Experiment Katzensnieren auf einen beidseitig nephrektomierten Hund. Die Überlebenszeiten gelten nach den heutigen Erkenntnissen als ziemlich unwahrscheinlich.

Mit der Entwicklung der immunsuppressiven Therapie nahmen 1963 und 1964 Reemtsma und Mitarbeiter (99) xenogene Transplantationen im System Schimpanse-Mensch vor. Die Patienten starben nach 3-9 Monaten hauptsächlich an einer durch die Immunsuppressiva bedingten Sepsis, seltener an reinem Nierenversagen.

Zu diesem Zeitpunkt wurden meist 6-Mercaptopurin und seine Derivate sowie andere Antimetabolite neben Cortison als Immunsuppressiva angewandt.

Trotz dieser unerwartet langen Überlebenszeiten im xenogenen System, die auch den Transplantationsergebnissen von Starzl und Mitarbeitern (109) 1964 bei zoologischer Disparität im System Pavian-Mensch entsprachen, wurden seither keine xenogenen Organtransplantationen mehr vorgenommen.

Durch die Fortschritte auf allen Gebieten der Medizin stieg die mittlere Lebenserwartung der Bevölkerung in den letzten Jahren stark an. Daraus folgte ein breites Anwendungsspektrum für die Transplantationschirurgie. Der Ersatz von Organen könnte für viele unheilbar kranke Patienten eine restitutio ad integrum bedeuten.

Wie wichtig die Organtransplantationen (Tab. 1) - insbesondere die Nierentransplantationen - in unserer heutigen Bevölkerung wurden, läßt sich an Hand des Anstiegs von Dialyse- und Transplantationszentren in Europa ansehen (Abb. 1) (46,52).

Übersicht über die seit 1963 transplantierten Organe

Statistik über 10 Jahre

	Niere	Herz	Leber	Lunge	Pankreas
Transplantation	14000	219	193	32	32
davon am Leben	5500	36	19	--	2
Max. Überlebenszeit in Jahren	16,5	5	4,5	0,1	1,5

Tab. 1: Organ Transplant Registry Statistics

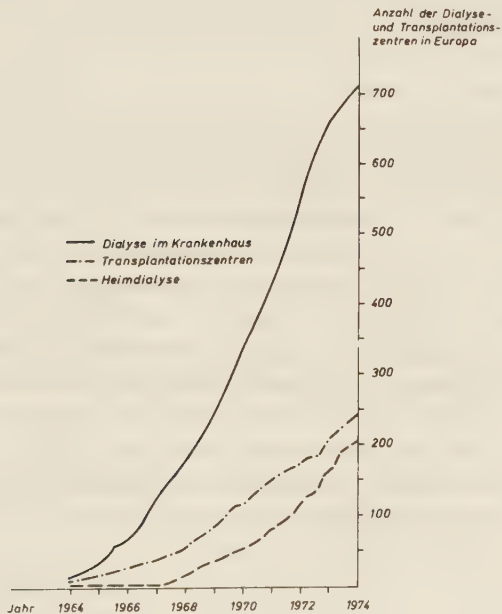


Abb. 1: Number of centres performing dialysis and transplantation in Europe 1964-1973.
(Europ. Gesellschaft für Dialyse und Transplantation).
(46)

An der Spitze der Nierenerkrankungen stehen die Glomerulonephritis und die Pyelonephritis, die bei 18 503 registrierten Patienten (entspricht 83,1 % aller Nierenerkrankungen) festgestellt wurden. Insgesamt sind 25 310 Patienten in Europa als nierenkrank karteimäßig erfaßt (Tab. 2).

Nierenkranke Patienten	25 310	±	100	%
Dialyse-Patienten	18 606	±	73,5	%
Patienten für die Transpl.	6 704	±	26,5	%

Tab. 2: Nierenkranke Patienten in Europa; Zahlen sind dem Bericht der europ. Gesellschaft für Dialyse und Transplantation entnommen (46). Gültig für 31.12.73.

Am 31.12.1973 waren 25 310 Patienten, von denen 17 649 noch am Leben sind, computermäßig erfaßt.

Von 18 606 Dialysepatienten sind noch 14 172 (6,2 %) am Leben, von den 6 704 Transplantationspatienten leben noch 3 477 (51,9 %). Die jährliche Zuwachsrate der Nierentransplantationen in Europa liegt bei ca. 1 669 Patienten. Die 5-Jahres-Überlebenszeit der Patienten lag um 70 % bei Nierenverpflanzung von Lebendspendern und um 55 % bei Transplantation von Leichennieren. Die Transplantatsüberlebenszeit von Leichennieren betrug ca. 35 %, bezogen auf 5 Jahre. Eine Zahl, die mit den Überlebenschancen nach Tumoroperationen verglichen werden kann.

Der geringe Anstieg der Lebendspender von 130 im Jahre 1971 auf 160 im Jahre 1972 zeigt die große Problematik für die Therapie. Die zur Ersttransplantation benötigten 226 Nieren stammen meist von Verkehrstoten. Aber auch damit ist der Bedarf an Organen nicht zu decken. Neben den rechtlichen und ethischen Bedenken (68,79) tauchen auch Probleme technischer Art auf, d. h.

1. Schwierigkeiten bei der Organkonservierung
2. Möglichkeiten einer gezielten Immunsuppression, um die Abstoßung verhindern zu können
3. Die optimale Spender-Empfängerkombination auszu-
testen.

Um diesen letzten Punkt zu verwirklichen, wurden Transplantationszentren wie Eurotransplant und Scandia-Transplant eingerichtet. Hier werden die bisher bekannten immungenetischen Eigenschaften, d. h. SD- und LD-Antigene von Empfänger und Spender ermittelt und im Computer gespeichert. In Anbetracht des großen Polymorphismus dieser Antigene wird die Spenderauswahl zwar verbessert, das Auffinden kompatibler Nieren jedoch noch schwieriger. Eine weitere Einschränkung der Spendernieren hat sich auch durch den allgemeinen medizinischen Fortschritt ergeben, der den Unfallopfern durch Intensivpflege und spezifischere chirurgische Möglichkeiten wesentlich bessere Überlebenschancen bietet.

Es ist daher von besonderem Interesse, neue Methoden zur Überbrückung des Spenderproblems zu entwickeln. Eine Möglichkeit stellt eben die Verwendung speziesfremder d.h. xenogener Organe dar.

Um dem Ziel der klinischen Xenotransplantation näher zu kommen, wurden systematische Untersuchungen vorgenommen. Es zeigte sich, daß die Überlebenszeit von Nierentransplantaten bei taxonomisch eng verwandten Tieren größer ist als

bei weiter entfernten (13,19,50,88,89,102,108).

Als eng verwandt bezeichnet man Individuen der gleichen zoologischen Familie, z.B.:

Schimpanse-Mensch, Fuchs-Hund, Ratte-Maus usw.

Die Aufgabe dieser Arbeit war es:

1. Transplantationen im eng verwandten System Fuchs-Hund durchzuführen und eine Abstoßung mit einer kombinierten immunsuppressiven Therapie zu unterdrücken.
2. Die Überlebenszeit von Nieren im "semi-xenogenen" System Dingo-Hund und Wolf-Hund zu ermitteln.¹⁾

1) Die Spendertiere wurden uns freundlicherweise vom Institut für Haustierforschung von Herrn E. Trummler bereitgestellt.

2 Material und Methoden der Transplantationen

=====

2.1 Verwendete Tiere

2.1.1 Empfängertiere

Die Hauttransplantationen wurden bei männlichen und weiblichen Bastardhunden mit einem durchschnittlichen Gewicht von 6 kg durchgeführt.

Hunde der Rasse "Beagle" haben sich als besonders geeignet bei der Transplantation von Fuchsnieren und Dingonieren erwiesen und fanden daher bei diesen Operationen Verwendung. Die Beagle hatten ein Durchschnittsgewicht von 10 kg. Die Wolfsnieren wurden auf große Schäferhunde mit einem Gewicht von mehr als 25 kg transplantiert.

2.1.2 Spendertiere

Als Spender für Haut und Nieren standen für die Untersuchungen ein Wolf (*canis lupus*), sechs Dingo_s (*canis Dingo*) und 16 Rot- bzw. Silberfuchse (*vulpes vulpes*) zur Verfügung.

2.2 Hauttransplantation im System Fuchs-Hund, Wolf-Hund und Dingo-Hund

Die 10 Versuchstiere wurden gegen Staupe¹⁾ aktiv geimpft. Narkotisiert wurde i.v. mit 25 mg/kg KG Nembutal²⁾. Die Tiere atmeten spontan. Die Haut des Spenders wurde in Stücke von 2 x 3 cm geschnitten und von Unterhautbindegewebe befreit. Die Transplantate wurden an 4 Ecken in vorbereitete Hautausschnitte an der lateralen Thoraxwand mit atraumatischen Fäden 3,0³⁾ fixiert und die verbleibenden Hautränder mit Histoacryl⁴⁾ Gewebsskleber adaptiert. Zum

1) Candur SHL, Behringwerke AG, Marburg

2) Deutsche Abbott GmbH, Ingelheim

3) Ethiflex

4) Histoacryl-L-blau Gewebsskleber, Braun Melsungen

Schutz der Transplantate wurde ein Drahtnetz von 8 x 10 cm mit Nähten so angebracht, daß ein Fenster zur täglichen Kontrolle freiblieb. Als Abstoßung wurde eine 60%ige Zerstörung des Transplantates gewertet.

Um Infektionen zu vermeiden, wurden Antibiotika i.v. verabreicht.

2.3 Methodik der Nierentransplantation

2.3.1 Präparation der Spendernieren

Füchse beiderlei Geschlechts erhielten ohne Praemedikation eine Nembutalnarkose (25 mg/kg KG i.v.)¹⁾. Nach Intubation wurden sie mit Lysthenon 2 % ²⁾ (40-60 mg) relaxiert und mit einer Starlingpumpe volumenkonstant beatmet.

Nach Präparation der Nieren von einem Medianschnitt aus wurden die Aorta abdominalis und die Vena cava inferior mobilisiert, indemman alle Äste über- und unterhalb der Aa. und Vv. renales abband. Die Ureteren wurden bis zur Harnblase mobilisiert. An jedem Harnleiter ließ man nach Freilegung einen Blasenpatch, d.h., das Orificium ureteris mit etwas Harnblase, stehen.

Nach Abbinden der Aorta abdominalis und der Vena cava inferior proximal der renalen Gefäße wurden sie durchgetrennt. Dieses "en bloc" Präparat wurde ca. 10 min mit 350-500 ccm Perfusionslösung blutleer gespült. Die verwendete Lösung, auf -4° C gekühlt, bestand aus einem Gemisch von 250 ccm Rheomacrodex (10 %)³⁾, 250 ccm physiologischer Kochsalzlösung, 2,5 ml Natriumbikarbonat (8,4 %)⁴⁾, 2,5 ml Novocain (10 %)⁵⁾ und 0,5 ml Heparin-Novo (5 ml/2500 I.E.)⁶⁾.

1) Deutsche Abbott GmbH, Ingelheim

2) Fa. Lentia GmbH, München

3) Fa. Knoll AG, Ludwigshafen

4) Salvia-Werk, Hamburg

5) Farben-Hoechst AG, Frankfurt

6) Novo Industrie GmbH, Mainz

2.3.2 Vorbereitung des Empfängers auf die Transplantation

Die Nierenempfänger wurden prophylaktisch gegen Staupe¹⁾ aktiv immunisiert. Nach Narkotisierung mit Nembutal, 25 mg/kg KG i.v., wurden die Tiere intubiert. Zur Volumen-Therapie und Erhaltung eines venösen Zugangs wurde NaCl i.v. infundiert. Über einen abdominalen Schnitt wurde beidseitig nephrektomiert und die Wunde danach wieder schichtweise verschlossen.

2.3.3 Transplantation der Spenderniere auf das Empfängertier

Über einen paramedianen Schnitt wurden die Iliacalgefäße dargestellt und mit Aorta und Vena cava des "en bloc" - Präparates arteriell: End zu End, venös: End zu Seit anastomosiert (Ethiflex 6-0)²⁾.

Während der Anastomosierung wurden die perfundierten Spendernieren mit Eiskissen gekühlt, um die ischämische Schädigung möglichst gering zu halten.

Die Ureteren wurden in die Blase implantiert. Vor dem schichtweisen Verschließen der Bauchwand wurde der Verlauf der Gefäße überprüft, die Nieren fixiert, um so ein Abdrehen oder Abknicken zu vermeiden.

Im Gegensatz zur "en bloc"-Transplantation der Fuchsnieren wurden Wolf- und Dingtonieren als unilaterale heterotope Nierentransplantation durchgeführt. Die Transplantationen wurden bei beidseitig nephrektomierten Beagles bzw. Schäferhundbastarden vorgenommen.

1) Candur SHL, Behringwerke AG, Marburg

2) Ethicon GmbH, Hamburg

2.4 AMS-Gewinnung

Bastardhunde (10-15 kg) erhielten in Anlehnung an die Methode von Fishman intraperitoneal eine Injektion von 5 % Proteasepepton-Lösung ¹⁾ (38).



Abb. 2: Schematische Darstellung zur Herstellung eines Anti-Hundemakrophagenserums; Abbildung entnommen aus: Ch. Chaussy e. a., Immunsuppr. Effekt eines AMS bei xenogener Nierentransplantation (22).

Nachdem das Tier entblutet war, wurde das Peritonealexsudat durch Spülen mit Hank'scher Lösung gewonnen. 50-70 % der erhaltenen Zellen waren Makrophagen, 10-30 % Lymphocyten und Granulocyten, ca. 3-5 % Gewebsmastzellen (22).

Mit den gewonnenen Peritonealzellen wurde ein Pferd immunisiert. Zunächst erhielt es eine einmalige intrakutane Injektion von ca. 15×10^9 Zellen, gemischt mit kompletten Freudschen Adjuvans. Danach wurden intravenös ca. $5 - 10 \times 10^9$ Zellen pro Woche appliziert. Der Titer war nach ungefähr 10 Wochen so angestiegen, daß in 14-tägigen Intervallen am

1) Difco USA, Vertrieb Otto Norwald, Hamburg

Pferd 5 1 Vollblut entnommen werden konnten. Gleichzeitig wurde mit Peritonealzellen geboostert. Das erhaltene Serum wurde gepoolt, hitzeinaktiviert und gegen Hunderythrocyten und Hundemilzzellen absorbiert. Durch die Absorption wurden alle Antikörper eliminiert (Tab. 3).

Der Titer an Makrophagen agglutinierenden Antikörpern betrug 1:64.

	Antimakroph.- cytotox.Titer	Antilymp. cytot.Titer	Hämaggl.	kompl.bindende AK gegen Organe
<u>PE-Zellen</u>				
Vor Immunis.	Ø	Ø	2-4	
3 Monate	64	64	256	
Absorb.	64	0-4	0-2	0-16

Tab. 3: Antikörperspektrum von Pferde - Anti - Hunde AMS aus Peritoneal-Exsudat-Zellen (PE-Zellen).

2.5 ALG - Gewinnung

Die Herstellung des Antilymphocytenglobulins erfolgte nach der Methode von Pichlmayr (92).

Die Lymphocyten wurden aus der Lymphe von mehreren Bastarden mit einem Gewicht von 15-80 kg gewonnen. Während des gesamten Versuches waren die Tiere narkotisiert. Die Drainage wurde über einen ca. 20 cm langen Rippenbogenrandschnitt transthoracal mit Polyäthylenschläuchen¹⁾ durchgeführt.

Die Lymphe wurde in einer eiswassergekühlten Flasche aufge-

1) Intramedic PE 280

fangen, in die vorher für je 200 ml Lymphe 50 ml Hank'sche Lösung und 1250 IE Heparin ¹⁾ zugefügt wurden. Der Gehalt an Lymphocyten in der gewonnenen Lymphe schwankte stark (ca. 4000-10000 Lymphocyten/mm³). Die Lymphe wurde bei 100 g 20 min lang zentrifugiert und das Zellsediment wieder in Hank'sche Lösung resuspendiert. Nach zweimaliger Waschung und Verdünnung auf eine Konzentration von $1-3 \times 10^7$ Lymphocyten/mm³ konnte die heterologe Suspension zur Immunisierung von Pferden verwendet werden. Die Tiere bekamen zweimal wöchentlich mit steigender Dosis intravenös $0,2 \times 10^9$ bis 2×10^9 Lymphocyten appliziert. Nach der Grundimmunisierung nach 4-6 Wochen wurde durchschnittlich jede Woche eine intravenöse Boosterung vorgenommen.

Zur Serumgewinnung wurde in zwei- bis dreiwöchigen Abständen jeweils 6-8 Tage nach der letzten Boosterung geblutet. Das Serum wurde gepoolt, hitzeinaktiviert und mehrfach gegen Hunderythrozyten absorbiert (Titer der Hämagglutinine < 1:8).

Durch Aussalzen (NH_4SO_4) wurden aus dem Serum die Globulinfraktionen isoliert und mittels physiologischer Kochsalzlösung auf einen Proteingehalt von 4,4 % eingestellt. Der lymphocytotoxische Titer lag zwischen 1:2048 und 1:4096, der Hämagglutinationstiter 1:2. Nach Filtration durch das Bakterienfilter wurde das Antilymphocytenglobulin (ALG) bei -20° C aufbewahrt.

2.6 Untersuchungen

2.6.1 Bestimmungen im Vollblut

2.6.1.1 Leukocyten:

Vollblut wurde mit 3 %-Essigsäure gemischt. Die Zählung erfolgte mit der Thoma-Neubauer-Kammer unter dem Lichtmikroskop.

1) Heparin novo, Novo Industrie GmbH, Mainz

2.6.1.2 Thrombocyten:

Die Blutblättchen ließen sich mit Ammoniumoxalat selektiv darstellen und in der Thoma-Neubauer-Kammer unter dem Phasenkontrastmikroskop auszählen (Methode nach Brecher) (75).

2.6.1.3 Hämatokrit:

Heparinisierte Kapillarröhrchen wurden mit der Mikrozentrifuge 5 min bei 5000 U/min zentrifugiert und anschließend mit einer Hämatokritschablone ausgewertet.

2.6.1.4 Blutausstrich:

Der auf einem Objektträger dünn ausgestrichene Blut tropfen wurde nach Lufttrocknung angefärbt (nach Pappenheim) (75).

2.6.1.5 Chromosomenanalyse:

10 ml heparinisiertes Vollblut (0,2 ml Liquemin auf 10 ccm Vollblut) wurden bei ca. 2000 U 15 min zentrifugiert. Der Überstand an weißen Zellen wurde mit 5 ml 3 %iger Dextranlösung 250 000 versetzt und ca. 20 min im Brutschrank bei 37° C inkubiert. Der leukocytenreiche Überstand wurde bei 1800 U 15 min zentrifugiert, das Sediment in 2 ml Medium aufgenommen.

Das Medium bestand aus 1,0 ml MeM¹⁾, 8,7 ml Aqua bidest., 0,1 ml Penicillin-Streptomycin-Lösung, 0,1 ml L-Glutamin und 0,1 ml essentiellen Aminosäuren, zusammen 10 ml. Mit 8,4 %igem Natriumbicarbonat-Puffer wurde das Medium auf pH 7,4 bis 7,6 eingestellt. Zur Analyse verwandte man zwei Ansätze:

1. 7 ml Medium, 1 ml Leukocytensuspension und 2 ml fetales Kälberserum

1) Minimum essential medium; Fa. Gibco, Vertrieb Fa. Roth, Karlsruhe

2. 7 ml Medium, 1 ml Leukocytensuspension und 2 ml autologes Plasma oder Serum, das bei der Zentrifugation des Vollblutes gewonnen wurde.

Beide Ansätze wurden in Erlenmeyerkolben mit 0,15 ml Phytohämagglutinin der Firma Gibco im Brutschrank bei 37° C für 72 h inkubiert. Mit 0,25 ml Colchicin (0,5 ml Colcemit auf 100 ml NaCl) für 3 h wurde als nächstes die Teilung in der Mitosephase (Metaphase) gehemmt. Die Suspension wurde anschließend bei 1600 U 10 min abzentrifugiert, das Sediment leicht aufgeschüttelt und in 5 ml 0,95 %igem Natriumcitrat 20 min belassen.

Die Zellsuspension wurde erneut bei 1600 U 10 min abzentrifugiert und das Sediment leicht aufgeschüttelt. Vorsichtige Zugabe von einigen Tropfen Methanol-Eisessig (2 Teile Methanol, 1 Teil Eisessig) und sofortiges Mischen mit einer Pasteur-Pipette. Hierauf folgten ein erneutes Zumischen von 5 ml Methanol-Eisessig und eine 20 minütige Inkubation. Man wusch ein drittes Mal bei 1600 U 10 min lang. Das eingedickte Sediment in Methanol-Eisessig wurde tropfenweise auf Objektträger gebracht und durch leichtes Blasen auf diesen verteilt.

Separat wurde kurzzeitig über der Flamme fixiert. Färbung erfolgte nach Giemsa (72).

2.6.1.6 Typisierung der Lymphocytantigene des Hundes (D-L Antigene)

5 ml liqueminiertes Blut wurden mit einer Messerspitze Eisen¹⁾ in einem 100 ml Erlenmeyerkölbchen 10 min bei 37° C in einem Wasserbad geschüttelt. Dann wurden 2 ml Dextran 250000 3 %ig²⁾ zugefügt, geschüttelt und in einem Reagenzglas schräg aufgestellt. Man ließ die Erythrocyten 30 min bei 37° C sedimentieren, die Leukocyten blieben im Überstand. 1,5 ml Ficoll-Isopaque³⁾ mit einem spezifischen Ge-

1) Firma Roth, Karlsruhe

2) Macrodex, Firma Knoll, Karlsruhe

3) Apotheke der Universität München

wicht von 1077 wurden mit dem Überstand überschichtet und 15 min bei 2500 U zentrifugiert. Der Lymphocytenring wurde über dem Gradienten abpipettiert und in ein mit Tris- Hank¹⁾ gefülltes Zentrifugenröhrchen gefüllt. Die Zellen wurden einmal 5 min bei 1200 U zentrifugiert, gewaschen und mit 3 Tropfen Kaninchenkomplement gemischt.

0,001 ml dieser Zellsuspension wurde in vorbereitete Tissue-Trays²⁾ pipettiert. Die Plättchen wurden bei -80° C in der Kühltruhe aufbewahrt.

Diese Tissue-Trays wurden leicht geschüttelt und 30 min bei 37° C inkubiert. Danach gab man Trypan-Blau 2 %ig³⁾ 1:1 mit 1,8 %igem NaCl verdünnt dazu. Nach 30 min bei Zimmertemperatur konnten die toten Zellen in % bestimmt werden. Jede der durch einen schwarzen Ring markierten Stellen des Glasbodens wurde mit 0,005 ml eines spezifischen Isoantiserums beschichtet, das unter Öl vor Verdunstung geschützt war.

Zur Kontrolle wurde der Test als Duplikat durchgeführt. Für jede Zellsuspension wurden Serumkontrollen und Kochsalzkontrollen mit Trypan-Blau auf Lebensfähigkeit der Lymphocyten durchgeführt.

2.6.1.7 Typisierung der roten Blutgruppenantigene des Hundes

Blut wurde in Einmalspritzen entnommen. Davon wurden 5 ml ohne Antikoagulans im Kühlschrank bei 4° C bis zur Gerinnung aufbewahrt und das Serum gewonnen, 5 ml heparinisiertes Blut dreimal mit dem zehnfachen Volumen Kochsalz gewaschen.

Zwei Zellsuspensionen wurden zur Typisierung gebraucht:

1) Apotheke der Universität München

2) Tissue- Trays der Fa. Muller Coates

3) Fa. Flukal

1. 2 %ige Zellsuspension in frischem, autologem Serum (nicht hitzeinaktiviert) als Komplementquelle für die Anti-A-A₁-Reaktion.
2. eine 2 %ige Zellsuspension in Kochsalz.

0,1 ml jedes Antiserums wurde mit der gleichen Menge roter Blutzellsuspension in einem Rundbodenglas (10x75 ml), möglichst Einmalglas, gemischt. Für die Hunde-Anti-A- und Anti-A₁-Reaktion wurden die Zellen in frischem autologem Serum aufgenommen. Das Zellantiserungemisch inkubierte man 15 min bei 37° C und zentrifugierte bei 1500 U für 15 sec. Die Hämolyse- bzw. die Agglutination und die Coombs-Reaktion (siehe später) konnten abgelesen werden.

Um den Grad der Hämolyse zu kontrollieren, mußte ein Nullwert vorliegen. Die restlichen Antiseren wurden mit der Kochsalz-Erythrocyten-Suspension gemischt, bei 4° C für 30 min inkubiert und 15 sec bei 1500 U zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Untersuchung auf Agglutinationen.

Coombs-Reaktionen wurden bei dieser Prozedur nicht benötigt. Die für Anti-A, bzw. für Anti-A₁ benötigte Coombs-Reaktion wurde wie folgt durchgeführt:

Lagen in einem Teströhrchen Spuren von Agglutinationen vor, so wurde Kaninchen-Antiserum oder Coombs-Reagens zugefügt. Die im Röhrchen vorliegenden Zellen wurden erneut dreimal in Kochsalz gewaschen und danach in 0,1 ml verdünntem Coombs-Serum für 5 min bei Zimmertemperatur inkubiert. Danach wurde bei 1500 U 15 sec zentrifugiert und auf Agglutinationen untersucht.

Die Typisierung für A und A₁ basiert auf folgenden Reaktionen:

1. Hämolyse
2. Hämagglutination
3. Hämolyse und Hämagglutination
4. Agglutination mit Coombs-Reagens

Die Ergebnisse für A und A₁ werden nach folgender Tabelle ausgewertet¹⁾:

1	Scamp-Anti	IKY A	5	Henry A-	Terr D
1a	Scamp-Anti	IKY A absorb.	5a	Henry A-	Terr D absorb.
2	Scamp-Anti	UMBWA A ₁	6	T- A	Tr TR
2a	Scamp-Anti	UMBWA A ₁ absorb.	6a	T- A	Tr TR absorb.
3	Horatio-A	Screw HDB	7	Anti Sy	Sy
3a	Horatio-A	Screw HDB absorb.	7a	Anti Sy	Sy absorb.
4	Bee- A	Screw C			
4a	Bee- A	Screw C absorb.			

Tab. 4: Blutgruppeneinteilung nach Prof. S. Swisher und B. Bull

2.6.1.8 Zweidimensionale Immunelektrophorese nach Laurell

Die Methode der zweidimensionalen Immunelektrophorese kann als Kombination der einfachen Agarosegel - Elektrophorese mit der Elektroimmundiffusion angesehen werden.

Die erste Dimension bestand aus der elektrophoretischen Auftrennung der Seren von Hund, Dingo, Wolf und Fuchs in einem antikörperfreien Agarosegel.

In der zweiten Dimension erfolgte dann die quantitativ auswertbare Immunpräzipitation während der Elektrophorese in einem Agarosegel, das die gewünschten Antikörper enthielt.

Technische Durchführung

Erste Dimension:

Auf einer Glasplatte, 7 x 7 cm, wurden 9 ml einer 1-1,5 %igen

¹⁾ Die Seren wurden von Prof. Scott Swisher, N.D. Prof. of Medicine und Bob Bull, Assistant Prof. der Michigan-State-University Eastlansing, freundlicherweise bereitgestellt.

Agaroselösung in Barbitalpuffer (pH 8,6, Ionenstärke $\mu = 0,02$) ausgegossen.

Mit einer Stanzkanüle von 2,5 mm Durchmesser brachte man vier Auftragsstellen an. In jede der Auftragsstellen wurden 5 μ l des zu analysierenden Serums eingefüllt. Eine Auftragsstelle wurde mit Serumalbumin beschickt, das mit Bromphenolblau markiert war, um eine Sichtkontrolle der Wanderungstrecke des schnellsten Proteins zu ermöglichen.

Der Kontakt zwischen Gel und Elektrophoresepuffer wurde mit einem 1 mm dicken Filterpapierstreifen¹⁾ hergestellt.

Elektrophoresebedingungen waren:

Puffer in der Elektrophoresekommer war Barbital:

Barbitalpuffer pH 8,6

Ionenstärke 0,02

Ausgangsspannung ca. 200 V

Feldstärke 8 - 10 V/cm

Stromstärke ca. 20 - 30 mA

Elektrophoresedauer: 60 - 80 min unter Wasserkühlung

Zweite Dimension:

Mit einer langen Schneideklinge wurden nach Beendigung der Elektrophoresestufe die Gelstreifen der aufgetrennten Proben abgetrennt und auf eine für die zweite Dimension vorgesehene Glasplatte, 7 x 7 cm, übertragen. Diese Platte war vorher mit einem dünnen trockenen Agarosefilm überzogen worden.

Auf einem Horizontaltisch wurden 6-7 ml vorbereitete anti-

1) Filterpapierstreifen der Firma Schleicher und Schüll, Nr. 2668

serumhaltige Agaroselösung in Barbitalpuffer (pH 8,6, Ionenstärke 0,02) auf den restlichen Teil der Platte ausgegossen. Nach 5 bis 10 min war das Gel erstarrt und die Platte wurde zur Durchführung des im rechten Winkel zur ersten Elektrophoreserichtung verlaufenden zweiten Elektrophoreseschrittes auf die Trägerplatte der Apparatur zurückgelegt.

Mit 1 mm dicken Filterpapierstreifen stellte man den Kontakt zu den Pufferlösungen her.

Als Ausgangsspannung wurden etwa 80 V, Feldstärke 2-3 V/cm und Stromstärke ca. 10 mA angelegt. Die Elektrophoresedauer war 8-22 h, je nach Wanderungsgeschwindigkeit.

2.5.1.9 Herstellung von xenogenen Antiseren

Die Herstellung der xenogenen Antiseren erfolgte durch Hauttransplantation von Fuchs, Wolf und Dingo auf Hunde. Nach Abstoßung der Hauttransplantate wurde noch dreimal im Abstand von 1 Woche mit spendereigenen Lymphocyten bzw. Milzzellen (4×10^8) nachimmunisiert. Die Hunde wurden getötet und entblutet. Das gewonnene Serum konnte eingefroren werden. Nach einem vorläufigen Screening wurden die positiven Seren für weitere Versuche absorbiert. Um das Antikörperspektrum einzuengen, absorbierte man die Hunde-Anti-Fuchs-Seren, die zum lymphocytotoxischen Test herangezogen wurden, mit Erythrocyten von Füchsen bzw. Hunden. Die Seren, die der Testung auf CEA-Antigene dienten, absorbierte man gegen Fuchsmilz und Hundemilz.

2.6.2 Bestimmungen im Serum und Urin

2.6.2.1 Messungen

2.6.2.1.1 Elektrolyte

Die Natrium- und Kaliumionen wurden flammenphotometrisch gemessen.¹⁾

1) Eppendorf - Photometer

2.6.2.1.2. Osmolarität

Die Bestimmung erfolgte durch Gefrierpunktserniedrigung¹⁾.

2.6.2.1.3 Protein

Das Eiweiß wurde nach der Biuret-Methode bestimmt²⁾.

2.6.2.1.4 Kreatinin

Die Bestimmung wurde nach der Testanleitung der "Biochem. Test Combination" durchgeführt²⁾.

2.6.2.1.5 Harnstoff

Die Bestimmung wurde nach Anleitung der "Biochem. Test Combination" durchgeführt²⁾.

2.6.2.2 Immunologische Untersuchungen der Seren

2.6.2.2.1 Hämagglutination

Hämagglutination wurde nach der Methode von Kabat, E. und Mayer, M. (59) mit leichten Modifikationen nach Hammer, C. (50) ausgeführt.

2.6.2.2.2 Komplementbindungsreaktionen

Komplementbindungsreaktion wurde als Modifikation der Reaktion nach Wassermann E. und Mayer, M. (59) durchgeführt.

2.6.2.2.3 Komplementtitration

Komplementtitration C'H 50 wurde nach der Methode von Kabat, E. und Mayer, M. (59) vorgenommen.

1) Osmometer, Dr. H. Knorr GmbH, Berlin

2) Boehringer, Mannheim

2.6.3 Nierenfunktionstest (¹³¹J-ortho-Jodhippursäure Clearance)¹⁾

Die täglichen Serum- und Urinuntersuchungen bei den nierentransplantierten Hunden wurden in bestimmten Intervallen durch radiologische Funktionsteste ergänzt. Radioisotopennephrographie und Szintigraphie wurden unter dem Begriff Funktionsszintigraphie zusammengefaßt (31,32). Diese Methode findet als schonende Untersuchung in der Klinik Anwendung, um Aufschlüsse über schwere Nierenerkrankungen zu bekommen (90,91,121).

¹³¹J-o-Jodhippursäure, ein γ -Strahler, wurde nach i.v. Gabe (ca. 100 μ Ci) zu 80 % tubulär sezerniert und zu 20 % glomerulär filtriert (31,62). Das Versuchstier wurde in Bauchlage (61,111) unter einer sogenannten Szintillationskamera nach Anger²⁾ plaziert. Der Abstand Haut-Kristall sollte 12 cm betragen. Dieser Detektor bestand aus einem großflächigen Szintillationskristall (Natriumjodid) von ca. 28 cm Durchmesser und 1,3 cm Dicke. Die Abbildung der γ -Strahlen erfolgte durch ein Kollimeter. Der Kristall gibt die von der einfallenden Strahlung erzeugten Lichtblitze auf 19 hexagonal angeordnete Photomultiplayer ab, die Überträger- und Verstärkerfunktion haben.

Aus den Signalen der Photomultiplayer wurden zwei Koordinaten auf den Oszillographen abgegeben. Die Intensität, als dritte Koordinate, wurde aus dem Integral über die 19 Multiplayer bestimmt (82).

Das auf Bildröhre dargestellte Bild konnte man mit einer Polaroidkamera photographieren. Mit einem Magnetbandspeicher war eine zusätzliche Aufzeichnung und spätere selektive sowie analoge Darstellung möglich.

Eine schnelle Anreicherung in den Nieren und in der Blase ließ auf eine gute Funktion des Transplantates schließen (33). Das i.v.-Pyelogramm wurde in einigen Fällen zur

1) Die radiologischen Untersuchungen wurden von Herrn Dr. K.J. Pfeiffer und Herrn Dr. H. Schmidt am Rieder-Institut München durchgeführt.

Sicherung der Aussage über die Funktion und zum Vergleich der beiden radiologischen Verfahren gemacht.

2.6.4 Histologie¹⁾

Nach dem Tod der Versuchstiere wurden Biopsien der zu untersuchenden Organe in 4 %iger Formalinlösung, die mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung auf einen pH-Wert von 7,2 eingestellt war, fixiert. Die in Parablast eingebetteten Präparate wurden in 3-5 μ m dicke Scheibchen geschnitten, mit Hämalaun gefärbt und auf die Objektträger aufgezogen.

Die untersuchten Organe waren in erster Linie Nieren, Leber, Milz und Lymphknoten. Die Auswertung erfolgte nach einem semiquantitativen Schlüssel (Tab. 5) (94).

Zu immunhistologischen Untersuchungen wurden die Präparate mit flüssigem Stickstoff fixiert.

Mit Kaninchen-Anti-Hundeseren, die mit FITC²⁾ markiert waren, konnten die entsprechenden Strukturen und Ablagerungen dargestellt werden. Im Fluoreszenzmikroskop wurde auf IgG, Komplement, Fibrinogen, Albumin und Thrombocyten hin untersucht.

1) Die histologischen Untersuchungen wurden von Herrn Priv.-Doz. Dr. K. Pielsticker am pathol. Institut der Ludwig-Maximil. Universität München durchgeführt.

2) FITC: Fluoresceinisothianat

Gewebsbestandteile		Veränderung
NIERE	Gefäße	Thromben
	Arterien	intravasale Zellvermehrung
	Arteriolen	Endothelkontakt
	Kapillaren	Endothelnekrose, -proliferation
	Venen	Medianekrose, -infiltration
	Interstitium	Zellinfiltrate
		Oedem
		Blutung
		Granulationsgewebe
		Fibrose, Narbenbildung
	Tubuli	Nekrose
		Atrophie
		Zylinder
		hyalintropf. Speicherung
		Nephrohydrose
		Papillennekrose
	Glomeruli	Narben, Synechien
		intravasale Zellvermehrung
		Thromben
		Endothelnekrose, -proliferation
		Mesangiumverbreit., Mesangiolyse
		Basalmembr.-Verdickung, -Schlängelung,
		- Doppelkontur, -Aneurysmabildung
		Epithelproliferation, Speicherung

Tab. 5: Schlüssel der semiquantitativen Auswertung histologische Befunde in Nierentransplantaten nach Pielsticker (94).

2.7 Versuchsanordnung

Wie aus Tabelle 6 ersichtlich ist, wurden bei den Versuchsgruppen 1-3 Hauttransplantationen, bei den Gruppen 4-7 Nierentransplantationen durchgeführt. Die immunsuppressive Therapie erfolgte nur bei Nierentransplantationen der Versuchsgruppe 4 und 5 nach Schema 1.

Gruppe	Spender	Art der Transpl.	Immun. supp. Therap.	n
1	Fuchs	Haut	---	10
2	Dingo	Haut	---	10
3	Wolf	Haut	---	10
4 KFHB	Fuchs	Nieren en bloc	PIgG	7
5 FHB	Fuchs	Nieren en bloc	ALG+AMS	9
6 KDB	Dingo	Niere	---	12
7 WH+KWH	Wolf	Niere	(ALG+AMS)	2

Tab. 6: Einteilung der Versuchsgruppen in Haut- und Nierentransplantation, einschließlich der angewandten Therapie

Schema 1:

Gruppe 4: PIgG

Tag	-3	-2	-1	0	1	bis Tod
PIgG/kg KG	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	tägl. 20 mg

Gruppe 5: ALG+AMS

Tag	-3	-2	-1	0	1	bis Tod
ALG/kg KG	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg
AMS/kg KG	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml	tägl. 0,3 ml

3 Ergebnisse

=====

3.1 Ergebnisse der genetischen Merkmale der Systeme

Fuchs - Hund

Dingo - Hund

Wolf - Hund

3.1.1 Ergebnisse der Chromosomentestung

Die Karyotypen von Hund (*canis familiaris*) und Dingo (*canis Dingo*), sowie Wolf (*canis lupus*) können nicht voneinander unterschieden werden. Die Untersuchungen ergaben Karyotypen mit einem diploiden Chromosomensatz von $2n = 78$. Charakteristisch ist, daß alle Autosomen terminal gelegene Zentromere besitzen und daß "X" das größte Chromosom im Satz mit submedial gelegenen Zentromeren ist. Wie diese Hunderassen (47) zeigt zusätzlich der Koyote (*canis latrans*) den gleichen chromosomalen Aufbau.

Die Chromosomenanzahl beim Fuchs (*vulpes vulpes*) variiert von $2n = 34$ bis $2n = 39$, wobei in unseren Studien $2n = 38$ vorherrschte. Untersuchungen von Gustavsson (48) zeigten eine einheitliche Zahl von $2n = 38$; Lin e.a. beschrieben bei Untersuchungen an Füchsen, die im südlichen Raum von Ontario gefangen wurden, eine Häufung bei $2n = 36$, wobei $2n$ zwischen 34 und 39 schwankte (72).

Der Karyotyp beim Fuchs ist charakterisiert durch eine große Gruppe der Chromosomen 1-16 mit medial bis submedial und subterminal gelegenen Zentromeren und durch eine kleinere Gruppe von 5 Mikrochromosomen im männlichen und 4 Mikrochromosomen im weiblichen Tier.

Diese Ergebnisse stimmen mit Untersuchungen von Fox überein (42).

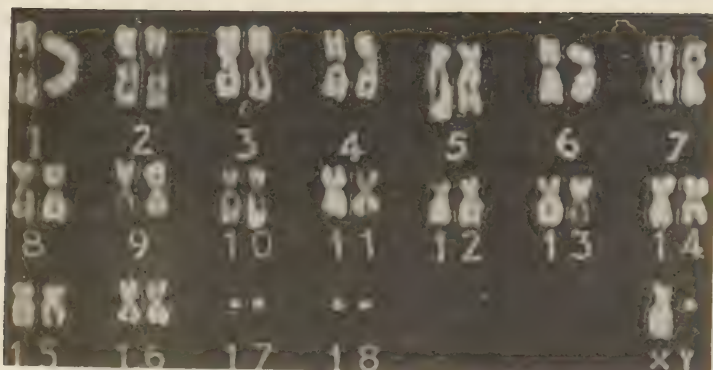


Bild a

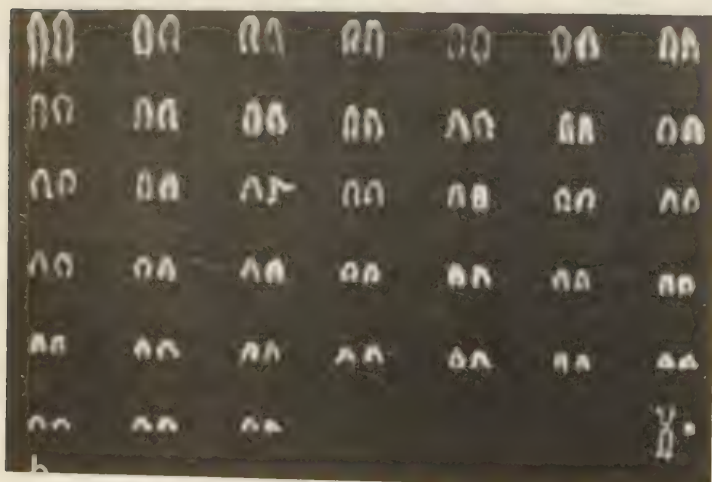


Bild b

Abb. 2: Karyogramme eines Fuchses ($2n=38$) (Bild a) und eines Hundes ($2n=78$) (Bild b).

3.1.2 Tissue - Typing

Die Lymphocyten von Spender und Empfänger wurden mit einem Pannel von Isoantiseren, das beim 1. workshop of canin immunogenetics aufgestellt wurde¹⁾ und gegen xenogene Antiseren, die am Institut selbst hergestellt wurden, getestet. Die Methode wurde von v. Rood (101) publiziert, der eine Methode von Kissmeyer-Nielsen (60) abwandelte. Zur Zeit kennt man 12 DL-A Spezifitäten, die auf den zwei SD-Loci liegen, pro Locus zwei Spezifitäten (10,115,116). Bei der Hunderasse "Beagle" waren die Testergebnisse eindeutig, während die Testung bei Bastardhunden, Dingos und Wölfen häufig nur unvollständige Haplotypen ergab. Es muß angenommen werden, daß noch nicht alle Antigene mit den bestehenden Seren erfaßt werden können.

Bei den Dingos konnten mit den Hundeantiseren drei bevorzugte Antigenspezifitäten gefunden werden, nämlich 3,8 und 14. DL-A 5, 10, 11 und 12 kommen selten vor. Beim Wolf konnten mit den Hundeisoantiseren die DL-A Spezifitäten 7 und 11 nachgewiesen werden.

Die Typisierungsergebnisse der Fuchslymphocyten FL-A waren 3, 7 in der ersten Gruppe und 5 in der zweiten. Andere Spezifitäten wurden beim Fuchs nicht gefunden. Die Testergebnisse im System Fuchs-Hund und Wolf-Hund blieben für die Transplantatüberlebenszeit ohne Relevanz.

Zwei xenogene Antiseren (Fuchshaut auf Bastardhund) zeigten mit Hundelymphocyten der DL-A Spezifität 7 und 8 Reaktionen. Da alle Hunde-Anti-Fuchsseren starke Hämolysine gegen Fuchserythrocyten besitzen, ließ sich eine sichere Differenzierung zwischen Erythrocyten vom Hund und vom Fuchs durchführen.

In Tabelle 7 und 8 sind die Ergebnisse der DL-A Typisierung von Füchsen, Dingos und Wolf in Relation zur Überlebenszeit dargestellt.

1) Dr. H.M. Vriesendorp, R.B.I. Rijswijk (116).

Gruppe 1:			Gruppe 2:			Gruppe 3:			
Fuchshaut auf Bastardhunde FL-A: 3-7/5-bl			Dingohaut auf Bastardhunde Dingo DL-A: 3-8/5-11 (14)			Wolfshaut auf Bastardhunde Wolf DL-A: (3)-7-10/bl-11			
Hund	DL-A	SVT	Hund	DL-A	SVT	CEA	Hund	DL-A	SVT
1	bl-9/6-bl	3	1	3-7-8-10/4-14	4	1, 5	1	bl-10/bl-11(13-14)	11
2	bl-8/5-11	7	2	8-9/4-12	28	1, 5	2	ND	7
3	3-7/6-12	3	3	3-10/11-14	7	5	3	8-9/bl-12-13	33
4	bl/5-bl	8	4	3-bl/bl-13	18	1, 3, 5	4	ND	7
5	3-7/11-12	6	5	3-10/13-14	7	7	5	3-7/5-11-(13-14)	16
6	bl-7/bl-11	8	6	bl/bl-13	3	1	6	7-9/bl-(11-12)	9
7	3-8/5-13+11	7	7	bl/5-11-13	3	7	7	3-8(10)/5-11(13-14)	7
8	3-7/bl-11	3	8	ND	+	-	8	1-bl/4-12	9
9	3-7/bl-11	5	9	3-bl/11-14	18	2, 7	9	ND	+
10	3-7/bl-11	3	10	bl/bl-13	7	1, 3, 5	10	3-bl/bl-12(13)	15

Tab. 7: Überlebenszeit der Hauttransplantationen im Vergleich zu den Ergebnissen der Testung auf DL-A (Dog-Lymphocyte-Antigen) Kompatibilität.

	CEA		DL-A	CEA	DL-A	SVT
	<u>Beagles</u>			<u>Fuchs</u>		
FHB	1	ND	7-9/5-6	ND	b1-b1/b1-b1	11
FHB	2	ND	7-9/5-6	ND	7-b1/b1-b1	21
FHB	3	ND	2-9/5-6	ND	b1-b1/b1-b1	12
FHB	4	ND	2-9/5-6	ND	b1-b1/5-b1	16
FHB	5	ND	ND	ND	b1-b1/b1-b1	17
FHB	6	ND	b1-9/4-6	ND	b1-b1/b1-b1	18
FHB	7	ND	ND	ND	ND	19
FHB	8	ND	3-b1/b1-b1	ND	b1-b1/6-b1	19
FHB	9	ND	ND	ND	ND	14
	<u>Beagles</u>			<u>Fuchs</u>		
KFHB	2	1,6,7	b1-b1/b1-14	3,4,6,7	b1-b1/5-b1	7
KFHB	3	7	3-10/6-12+14	7	b1-7/b1-b1	7
KFHB	5	1,7	2-7/5-11	6,7	b1-b1/b1-b1	9
KFHB	6	7	3-9/6-12+14	3,6,7	b1-b1/b1-b1	6
KFHB	7	1,6,7	3-9/6-12	6,7	b1-8/5-b1	10
	<u>Beagles</u>			<u>Dingo</u>		
KDB	2	1,4,6,7	2-9/6-12	1,7	3-8/b1-11	10
KDB	3	1,7	3-9/6-12	1,7	1-8/12-14	12
KDB	4	3	3-9/6-12	1,7	1-8/12-14	9
KDB	9	1,2,5,7	3-9/6-12	5,6	3-8/b1-b1	12
KDB	11	3,5,7	3-10/6-12	7	3-8/5-11	9
KDB	12	ND	3-8/5-13	7	3-8/5-11	17
	<u>Bastard-Hunde</u>			<u>Wolf</u>		
WH	ND		3-10/5-14	1,4	7-(10)/11-14	28
KWH	ND		3-10/5-13	1,4	7-(10)/11-14	31

Tab. 8: Überlebenszeit transplantiertier Nieren von Füchsen, Dingos und einem Wolf, im Vergleich zu den Ergebnissen aus der Testung der DL-A (Dog-Lymphocyte-Antigen) und CEA (Canine-Erythrocyte-Antigen).

Ergebnisse der eigenen xenogenen Antiseren

Die eigenen xenogenen Antiseren wiesen vereinzelt Reaktionen gegen die Lymphocyten der Empfänger auf (Tab. 9a, 9b, 9c, 9d). Serum 8 und 9 zeigten eine deutliche Reaktion gegen Fuchsl lymphocyten.

Nach Absorption gegen Hundemilz (FL_{HM}) zeigte sich ein unterschiedliches Verhalten zwischen der Gruppe 4 und der Gruppe 5.

Bei den Testergebnissen fielen zwei Verhaltensweisen auf:

1. Nach Absorption erfuhren die getesteten Spezifitäten Einschränkungen. So reagierten von den aufgeführten Seren nach den Absorptionen nur noch wenige positiv.
2. Wahrscheinlich durch Überlagerung oder eine Art kompetitiver Hemmung verursacht, reagierten nach Absorption andere Spezifitäten positiv, die zunächst nicht positiv waren.

Aus den bisherigen Ergebnissen lassen sich noch keine Schlüsse ziehen, wie weit diese xenogenen Antiseren spezifische Wirkung haben.

In Testen mit Wolfslymphocyten zeigten die Seren keine eindeutige Spezifität. Nur zwei Seren aus der Hauttransplantation waren positiv.

Spender: Fuchs

	FL	FL _{HM}	FL _{HE}	FL _{FE}	FL _{FM}	FH
KFHB 2	1 - 9	1,5 - 9	4 - 8	4 - 9		1,3,29,47,99,100
KFHB 3	1 - 9	1 - 9	1 - 9	1-5,7-9		
KFHB 5	1 - 9	1 - 9	1 - 9	4,5,8,9		1,3,12,47,99,100
KFHB 6	1-4,7-9	1,4,7	1,2,4-9	1 - 9		1,3,29,47,81,100
KFHB 7	1 - 9	1 - 9	1,5- 9	2,3,7,9		1,3,29,47,100

Empfänger: Beagle

	FL	FL _{HM}	FL _{HE}	FL _{FE}	FL _{FM}	FH
KFHB 2	9	1				
KFHB 3	9	1			1	
KFHB 5	9	1,2	8,9	8,9		1,3,29,47,100
KFHB 6	8		8	8,9		3,12,29,81,88
KFHB 7	8,9	8	5,8,9	5,7-9		3,12,29,81

Tab. 9a: Testergebnisse der eigenen xenogenen Antiseren im System Fuchs-Beagle (Gruppe 4)

Spender: Fuchs

	FL	FL _{HM}	FL _{HE}	FL _{FE}	FL _{FM}	FH
FHB 1	1, 2, 4-9					
FHB 2	1-4, 6-9		7	5, 6		
FHB 3	1, 2, 4, 5, 7-9		7	7		
FHB 4	1-9			2, 5-7		
FHB 5	1-4, 6, 8, 9		7	5		
FHB 6	1, 2, 4, 5, 7-9					
FHB 7	NT		NT	NT		
FHB 8	1-9		7	2, 5, 6		
FHB 9	NT		NT	NT		

Empfänger: Beagle

	FL	FL _{HM}	FL _{HE}	FL _{FE}	FL _{FM}	FH
FHB 1	--		--			
FHB 2	8					
FHB 3	8, 9		1			
FHB 4	8, 9		6, 7			
FHB 5	NT		NT			
FHB 6	--		--			
FHB 7	NT		NT			
FHB 8	--		--			
FHB 9	NT		NT			

Tab. 9b: Testergebnisse der eigenen xenogenen Antiseren im System Fuchs-Beagle (Gruppe 5)

Spender: Dingo

	FL	FL _{HM}	FL _{HE}	FL _{FE}	FL _{FM}	FH
KDB 2	5, 9		5, 8, 9	5, 8, 9		1, 3, 29, 81, 100
KDB 3		4, 5	8, 9	8, 9		
KDB 4	5, 6, 8, 9		5, 6, 8, 9	8, 9		1, 3
KDB 9		3, 5	8, 9	8, 9		1, 3, 47, 48
KDB 11						
KDB 12						

Empfänger: Beagle

	FL	FL _{HM}	FL _{HE}	FL _{FE}	FL _{FM}	FH
KDB 2	8, 9	8, 9	8, 9	4, 7, 8		3, 12, 29, 47
KDB 3	4	4-8	8, 9	4	1	3, 47, 81
KDB 4	5	4, 7, 8	8, 9			3, 47
KDB 9	9		8, 9	8, 9		1, 3
KDB 11	1, 5, 8, 9	7, 9	8, 9	8, 9	1	3, 81
KDB 12	1, 6, 9		6, 9	4, 6, 9		1, 3, 47, 100

Tab. 2c: Testergebnisse der eigenen xenogenen Antiseren im System Dingo-Beagle (Gruppe 6)

Spender: Wolf

	FL	FL _{HM}	FL _{HE}	FL _{FE}	FL _{FM}	PH
WH 1						
KWH 1	8		7,8	9		1,3

Empfänger: Schäferhundbastard

	FL	FL _{HM}	FL _{HE}	FL _{FE}	FL _{FM}	PH
WH 1						
KWH 1						29,47

Tab. 9d: Testergebnisse der eigenen xenogenen Antiseren im System Wolf-Beagle (Gruppe 7)

Erklärung der Abkürzungen in Tab. 9a, 9b, 9c und 9d

FL = Fox Lymphocyte

FL_{HM} = FL absorbiert gegen Hundemilz

FL_{HE} = FL absorbiert gegen Hundeerythrocyten

FL_{FE} = FL absorbiert gegen Fuchseerythrocyten

FL_{FM} = FL absorbiert gegen Fuchsmilz

PH = Serum von Fuchs-Hund-Hauttransplantation

3.1.3 Ergebnisse der Erythrocytentestung von Fuchs, Dingo und Hund

Beim Hund konnten alle bekannten Blutgruppen mit den vorkommenden Isoantiseren nachgewiesen werden. Dabei scheint die Blutgruppe "Sy" (Swisher-Skala Tab. 4) bei fast allen Beagles der von uns verwendeten Kolonie vorzukommen (Tab. 8). Auch die durch Hauttransplantationen erzeugten Heteroantiseren gegen Fuchshaut waren in der Lage, Erythrocyten zu agglutinieren. Die vorliegenden Ergebnisse erlauben zahlenmäßig noch keine sicheren Rückschlüsse auf eventuell neu dargestellte Phänotypen.

Der einzige bisher getestete Wolf zeigte mit Isoantiseren den Phänotyp A, C, während die 7 Dingos vor allem die CE-Antigene A,D,Tr,Sy nach der Swisher-Skala trugen. Ein Auswertungsbeispiel zeigt Tab. 10. Sy war bei den Dingos zu 50 % vertreten.

Für die Heteroantiseren gilt dasselbe wie für die getesteten Hundeseren. Hundeisoantiseren waren in der Lage, Fuchsbloodgruppen zu erkennen, wobei wie beim Hund die Gruppe Sy in fast jedem getesteten Fuchs bestimmt werden konnte. An zweiter Stelle lag die Gruppe Tr.

Die Blutgruppen A und A₁ konnten nicht nachgewiesen werden. Die Blutgruppen B, C und D waren selten.

Die von uns untersuchten Hetero- und Xenoantiseren zeigten beim Fuchs besonders starke Hämolysereaktionen, die als speziesspezifisch gewertet werden müssen. Fuchs-Segregation der Blutgruppe in Familien wurden mit diesem Serum nicht gefunden.

Die Ergebnisse, die aus Seren der Wolfshauttransplantationen gewonnen wurden, müssen noch weiter untersucht werden.

Die Zahl der getesteten Füchse war zu gering.

Blut- gruppe	A 1	A 2 ¹	B 3	C 4	D 5	TR 6	Sy 7	FL6 WHH O WHH 87 WH 88 WH 99
Dingo-Nr.								
1	3						4	4
2								4 4 4 4 4
3	3						4	4 4 4 4 4
4	4						4	4 4 4
5								
6					4	4		
7								4
8							3	

Tab. 10: Auswertung der Blutgruppenuntersuchung beim Dingo nach der Swisher-Skala (Tab. 4); hinter dem Doppelpunkt handelt es sich um eigene Isoantiseren, die noch weiter untersucht werden müssen.

3.1.4 Ergebnis der Immunelektrophorese

Mit der gewöhnlichen Elektrophorese war es nicht möglich, Unterschiede im System der Caniden zu finden. Mittels der 2-dimensionalen Elektrophorese kamen bei Hundeseren klare Unterschiede zum Ausdruck. Die Serumproteine der Füchse ließen sich deutlich von denen aller anderen Hundearten unterscheiden (Abb. 4).

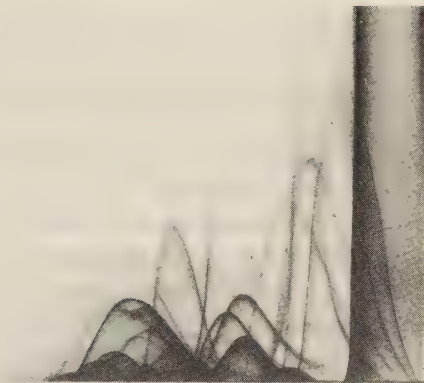


Bild a

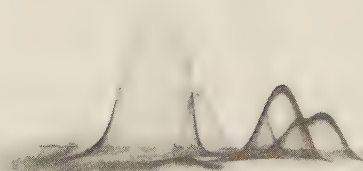


Bild b

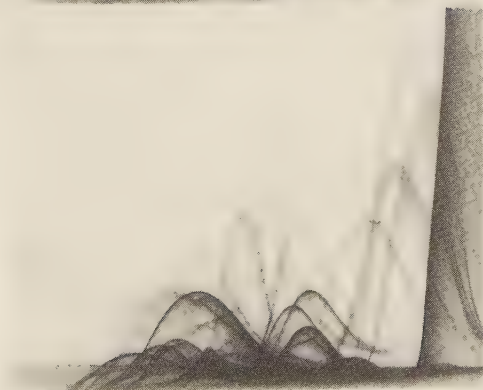


Bild c

Abb. 4: Zweidimensionale Immunelektrophorese von Hunde- (a) Fuchs- (b) und Wolfsserum (c). Als Antiseren zur Präzipitation wurde Kaninchen-Anti-Hunde-Serum verwendet.

Zusammenfassung zu Kap. 3. 1:

Auf Grund der Untersuchungen ergibt sich, daß Hund, Dingo und Wolf eine große Übereinstimmung in den getesteten Merkmalen zeigen. Die Transplantationen im System Dingo-Hund und Wolf-Hund können nach diesen Ergebnissen nicht als xenogen bezeichnet werden. Um die Speziesunterschiede aus der zoologischen Klassifizierung zu berücksichtigen, wurde die Bezeichnung "semixenogen" eingeführt. Fuchse-Hunde wiesen typische Unterschiede in den genetischen Merkmalen auf. Neben den hier ermittelten Abweichungen von der Chromosomenzahl seien noch die Abweichungen im Isoenzymmuster und der Serumproteine erwähnt (52).

3.2 Ergebnisse der Hauttransplantationen

Die Überlebenszeiten der Hauttransplantate wurden in Tab. 7 dargestellt. Fuchshauttransplantationen überlebten auf Bastardhunden $5,3 \pm 0,7$ Tage. Die Transplantatüberlebenszeit schwankte zwischen 3 Tagen und maximal 8 Tagen. Im semixenogenen System wurde die Dingohaut nach $10,6 \pm 2,9$ Tagen (min. 3 Tage, max. 28 Tage) und die Wolfshaut nach $12,7 \pm 2,8$ Tagen (min. 7 Tage, max. 33 Tage) abgestoßen. Die große Schwankungsbreite zwischen den längsten und kürzesten Überlebenszeiten erklärt die großen mittleren Fehler (Abb. 5).

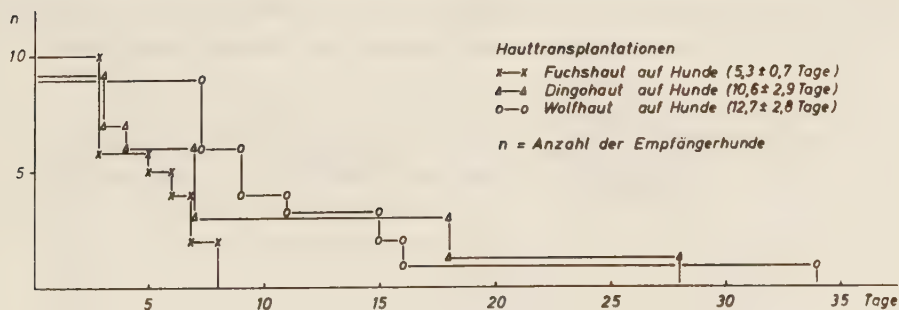


Abb. 5: Zusammenstellung der Überlebenszeiten von Hauttransplantaten im System Fuchs-Hund, Dingo-Hund und Wolf-Hund.

3.3 Ergebnisse der Nierentransplantationen im System Fuchs-Hund

Tabelle 11a bringt eine kurze Zusammenstellung der im Institut für Chirurgische Forschung ermittelten Ergebnisse:

Spender	Empfänger	Immun-suppl.	n	Inter-kurr. Kompl.	Überlebenszeit in Tagen	Lit.
Fuchs	Hund	--	8		$6,5 \pm 0,4$	(25)
Fuchs	Hund	AMS	5		$15,8 \pm 0,7$	(24)
Fuchs	Hund	ALG	9		$13,2 \pm 1,0$	(24)
Fuchs	Beagle	PIgG	5	2	$7,8 \pm 0,7$	Gruppe 4
Fuchs	Beagle	ALG+AMS	7	2	$17,7 \pm 0,9$	Gruppe 5

Tab. 11a: Ergebnisse der bisher bekannten Nierentransplantationen im System Fuchs-Hund. Die mittlere Überlebenszeit und die mittleren Fehler sind in Tagen angegeben.

3.3.1 Behandlung mit Pferdegamma globulin (PIgG) nach Nierentransplantation (Gruppe 4)

3.3.1.1 Ergebnisse der Serumuntersuchungen

Um den Einfluß der spezifischen Wirkung der Immunsereen von Fremdproteinen (Normalpferdeglobulin) abzugrenzen, mußte die Wirkung von Pferde-IgG auf die Transplantatsabstoßung geprüft werden. Den Nierenempfängern wurden vom -3. Tag bis zum Versuchsende täglich 20 mg der Globulinfraktion verabreicht.

Die Überlebenszeit war $7,8 \pm 0,7$ Tage, dies entspricht Ergebnissen von unbehandelten Nierenempfängern (25) (Abb. 6). Die Behandlung mit Pferdegamma globulin (PIgG) hatte, wie aus Tab. 11 hervorgeht, vor der Transplantation keinen Einfluß auf die Leukocyten und die Thrombocyten. Der Hämatokrit zeigte leicht fallende Tendenz.

Nach der Transplantation beobachtete man einen sprunghaften Anstieg der Leukocyten mit nachfolgender Normalisierung um Tag 4.

Der in Abb. 7 dargestellte Verlauf der Lymphocyten zeigte große Streubreiten, jedoch konnte bis zum Exitus eine Tendenz zur Lymphocytose abgelesen werden. Die Ausgangswerte wurden gleich 100 % gesetzt.

Die Kreatinin- und Harnstoffwerte im Serum der Empfänger stiegen postoperativ rasch an (Tab. 11).

Am 3. Tag nach der Transplantation bildete sich ein Plateau. Bis zum Tod der Hunde stieg die Kurve stetig weiter. Die Werte des Serum- Natriums verliefen ohne signifikante Abweichungen. Bis kurz vor dem Tod blieben die Kaliumwerte normal, dann konnte in einigen Fällen ein Anstieg gemessen werden.

Das Gesamteiweiß im Serum und die Osmolarität begannen drei Tage vor Todeseintritt bis zum Exitus anzusteigen.

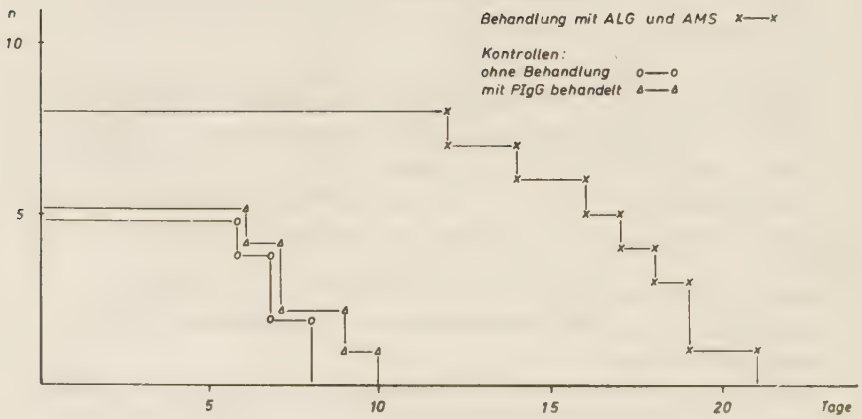


Abb. 6: Überlebenszeit von Hunden nach Fuchsnierentransplantation. Dargestellt wurden Hunde nach Transplantation ohne immunsuppressive Therapie, mit Pferdegammaglobulinbehandlung und mit ALG und AMS Kombinationstherapie.

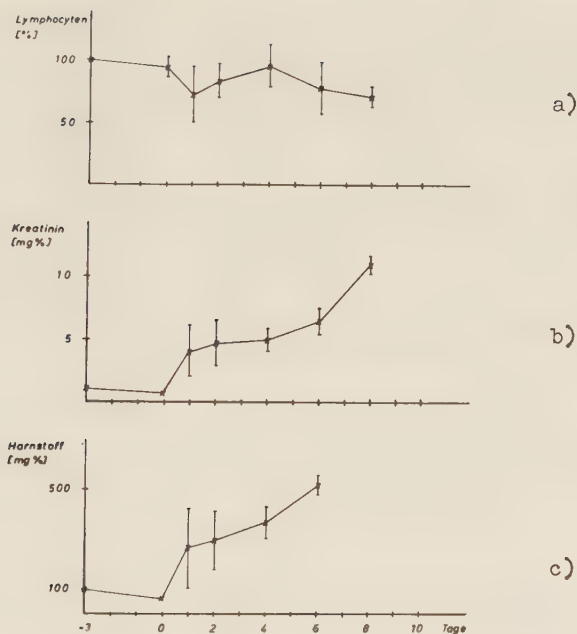


Abb. 7: Ergebnisse der Gruppe 4 (Fuchsnieren auf Beagles transplantiert und mit PlGg behandelt). Die Lymphocytenmittelwerte (a) wurden in % des Wertes bei Behandlungsbeginn aufgetragen. Die Kreatinin- (b) und Harnstoffkonzentrationen (c) wurden in mg/100 ml Serum angegeben. Neben den Mittelwerten wurden die mittleren Fehler eingezeichnet. Der Versuchsbeginn war an Tag -3, die Transplantation wurde an Tag 0 vorgenommen.

Tag	-3	0	1	2	4	6	8
Leukocyten $\times 10^3$	12,5 $\pm$ 1,0	11,2 $\pm$ 1,5	30,1 $\pm$ 5,4	25,4 $\pm$ 5,9	18,1 $\pm$ 2,4	22,7 $\pm$ 3,1	21,1 $\pm$ 4,5
Thrombocyten $\times 10^3$	274 $\pm$ 31	298 $\pm$ 55	159 $\pm$ 13	239 $\pm$ 35	322 $\pm$ 70	293 $\pm$ 67	213 $\pm$ 23
HK	46,5 $\pm$ 2,0	44,2 $\pm$ 4,2	35,6 $\pm$ 2,6	31,2 $\pm$ 2,2	29,6 $\pm$ 1,6	32,8 $\pm$ 6,5	71,7 $\pm$ 7,4
Lymphocyten %	100	93,8 $\pm$ 7,9	72,2 $\pm$ 22,4	83,9 $\pm$ 14,3	96,8 $\pm$ 17,3	77,0 $\pm$ 21,0	11,0 $\pm$ 0,7
Kreatinin (mg%)	1,15 $\pm$ 0,22	0,8 $\pm$ 0,1	4,1 $\pm$ 2,0	4,8 $\pm$ 1,8	6,0 $\pm$ 0,9	6,4 $\pm$ 1,1	11,0 $\pm$ 0,7
Harnstoff (mg%)	84,3 $\pm$ 10,3	61,7 $\pm$ 6,6	264,7 $\pm$ 158,5	292,7 $\pm$ 121,5	367,7 $\pm$ 61,3	514,9 $\pm$ 42,1	514,9 $\pm$ 42,1
Natrium (mval/l)	152 $\pm$ 3	147 $\pm$ 3	141 $\pm$ 4	148 $\pm$ 2	146 $\pm$ 2	140 $\pm$ 2	140 $\pm$ 2
Kalium (mval/l)	4,3 $\pm$ 0,3	4,5 $\pm$ 0,3	5,1 $\pm$ 0,6	4,7 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,3	4,3 $\pm$ 0,4	4,3 $\pm$ 0,4
Eiweiß (g%)	6,1 $\pm$ 0,1	5,9 $\pm$ 0,3	5,5 $\pm$ 0,2	5,9 $\pm$ 0,6	5,5 $\pm$ 0,4	5,2 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,2
Osmolarität	291 $\pm$ 3,4	314 $\pm$ 13,5	332 $\pm$ 22,3	319 $\pm$ 11,9	336 $\pm$ 9,1	333 $\pm$ 14,4	340 $\pm$ 13,5

Tab. 11: Verhalten von physiologischen Parametern im Serum von Beagles nach Fuchsiorenttransplantation. Die Empfänger wurden mit PlGG (Pferdegammaglobulin) therapiert. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und die mittleren Fehler an. Leukocyten und Thrombocyten müssen mit 1000 multipliziert werden. Lymphocyten werden in % zum Ausgangswert am Tage -3 angegeben.

3.3.1.2 Ergebnisse der Urinuntersuchungen

Wie aus Tab. 12 ersichtlich ist, nahm die Harnstoffkonzentration ebenso wie die Kaliumkonzentration stetig ab. Die Natriumkonzentration stieg im Urin kurz vor dem Tod der Tiere stark an.

Aus versuchstechnischen Gründen war es nicht möglich, täglich und zu bestimmter Zeit Urin zu sammeln. Zwischen den Serum- und Urinwerten unbehandelter und mit PIGG behandelte nierentransplantierte Hunde bestehen keine großen Abweichungen (Abb. 8).

Der Quotient der Osmolarität des Urins zu der des Serums liegt bei den Mittelwerten immer über 1,0.

Tag	1	2	4	6	8
Harnstoff (mg%)	2,3±0,8	2,0±0,8	1,6±0,2	1,0 ±0	0,81±0,3
Natrium(mval/l)	128±39	54±31	87±45	212±78	365±125
Kalium (mval/l)	38,8±15,3	45,2±32,7	26,1±0,6	16,8±4,3	15,2±8,1
Osmolarität	572±113	538±75	443±18	370±18	439±69
U/P	1,5±0,4	1,7±0,3	1,3±0,1	1,1±0,1	
Protein im Urin (g%)	1,3±0,4	0,9±0,1	0,4±0,1	1,2±0,5	3,2±0,5

Tab. 12: Verhalten physiologischer Parameter im Urin bei nierentransplantierten Beagles unter PIGG-Therapie ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

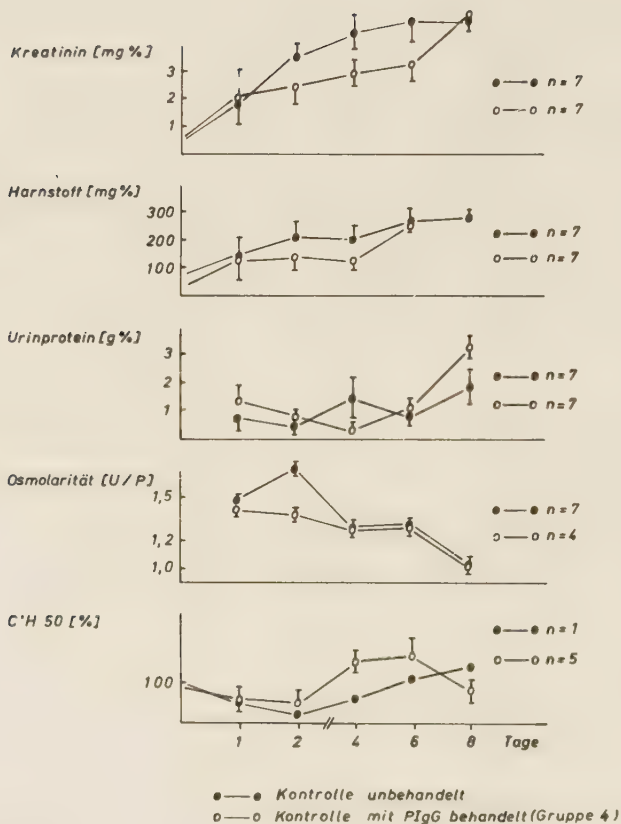


Abb. 8: Vergleichende Darstellung postoperativer Serum- und Urinwerte von unbehandelten und PiGg-behandelten Hunden nach Fuchsnierentransplantation. Die unbehandelte Kontrollgruppe (107) wurde zur besseren Vergleichsmöglichkeit angeführt.

3.3.1.3 Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen

Tab. 13 und 14 zeigen das Verhalten der Hämolyseaktivität des Komplements im peripheren venösen Blut. Die Werte sind in % der Ausgangswerte angegeben.

Zunächst wurde nach Transplantation ein leichter Abfall der Mittelwerte des Serumkomplements bis zum Tag 2 beobachtet. Von Tag 4 bis zu Tag 6 kam es zu einer Plateaubildung im Normalbereich, anschließend zu einer Hyperkomplementämie.

Antikörper gegen Fuchserythrocyten traten bei 3 von 5 ausgetesteten Versuchshunden auf. Die Titerstufen waren jedoch niedrig (Tab. 13).

Der Titer der komplementbindenden Antikörper (KBR) gegen Fuchsniere stieg leicht an. Gegen Fuchsleber blieb der Wert unverändert. Während der Abstoßungsreaktion am Tag 4 und in der Urämie der Tiere kam es zu keiner weiteren Produktion von Antikörpern.

Die Titer der praeformierten natürlichen Antikörper (PNAK) als Indikator einer Sensibilisierung gegen Fremdprotein änderten sich nicht. Nur bei einem von 5 Versuchstieren stieg der Antikörpertiter gegen Pferdeerythrocyten ab Tag 4 post op., also 7 Tage nach Fremdglobulinapplikation, bis zum Tode um 6 Titerstufen an.

Tag	-3	0	1	2	4	6	8	10
Komplement C'H50 (%)	100	90,5 $\pm$ 5,7	88,7 $\pm$ 7,0	85,1 $\pm$ 6,8	116,1 $\pm$ 7,4	118,2 $\pm$ 12,2	95,1 $\pm$ 8,6	280,9 $\pm$ 21,2
Häm Pferd	2,4 $\pm$ 0,4	2,0 $\pm$ 0,6	1,8 $\pm$ 0,6	2,0 $\pm$ 0,6	2,4 $\pm$ 0,9	3,0 $\pm$ 1,4		
Häm Fuchs	0	0	0,2 $\pm$ 0,2	0	0	0,2 $\pm$ 0,2	0	
KBR Leber	4,2 $\pm$ 0,4	3,8 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,3	3,6 $\pm$ 0,4	4,2 $\pm$ 0,4	4,3 $\pm$ 0,6	4,5 $\pm$ 1,5	
KBR Niere	3,3 $\pm$ 0,3	3,3 $\pm$ 0,3	3,7 $\pm$ 0,3	4,0 $\pm$ 0,6	3,7 $\pm$ 0,9	4,3 $\pm$ 0,3	5,5 $\pm$ 0,5	

Verhalten immunologischer Parameter im Serum von Beagles mit Fuchsnieren unter Therapie von FIGG. Die Mittelwerte des aktiven Komplements sind in % angegeben. Der Wert vor Behandlungsbeginn wurde gleich 100 % gesetzt. Die Hämagglutinationen und Komplementbindungsreaktion sind in Potenzen zur Basis 2 im Mittelwert mit mittlerem Fehler angegeben.

Tab. 13:

Tag	-3	0	1	2	3	4	5	6	7	9	10
KFBH 2	100	99,6	69,4	88,4	115,2	113,4	109,7	98,7	70,2		
KFBH 3	100	92,7	97,1	82,2	62,4	134,0	130,3	140,6	106,4		
KFBH 5	100	74,0	87,6	101,2	121,1	119,1	127,1	115,4	107,2	302,1	
KFBH 6	100	95,5	100,7	68,6	138,0	98,0	----	(506,4)			
KFBH 7	100	----	----	----	----	----	(187,1)	195,2	96,7	259,7	475,9

Tab. 14: Einzelwerte des Komplements C'H 50 in % zum Ausgangswert angegeben. Auffallend ist eine Hyperkomplementämie bei fast allen Tieren ab Tag 3. Die Werte in Klammern wurden bei der Mittelwertberechnung wegen der großen Abweichungen vom Kollektiv nicht berücksichtigt.

3.3.1.4 Nierenfunktionstest

Am Beispiel von KFHB 2 werden die nuklearmedizinischen Untersuchungsergebnisse aufgezeigt. Der Mittelwert der Versuchsreihe ließ sich nicht ermitteln, da die Untersuchungen an verschiedenen Tagen p.op. durchgeführt wurden und starke individuelle Schwankungen auftraten.

Abb. 9 zeigt eine Kamerafunktionsszintigraphie. Angegeben sind hier die Nieren- und Blasenerscheinungszeiten. Schon 4 h nach der Transplantation zeigte sich während der Testzeit von 0-2 min eine sehr gute Anreicherung von Hippuran in den beiden Nieren. Nach 5-7 min stellte sich auch die Blase dar.

Am Tag 4 kam es erst 12-14 min nach Applikation zur Anreicherung des radioaktiven, nierenpflichtigen Stoffes in den Nieren.

Die Körperanreicherung und der Körperabfall ist in Abb. 10 graphisch dargestellt worden. Die Kurve erreichte 4 h post op. Normalwerte. Nach anfänglich hoher Körperstrahlung wurde die Aktivität rasch von der Niere ausgeschieden. Die Ausscheidung wurde, wie dargestellt, von Tag zu Tag schlechter.

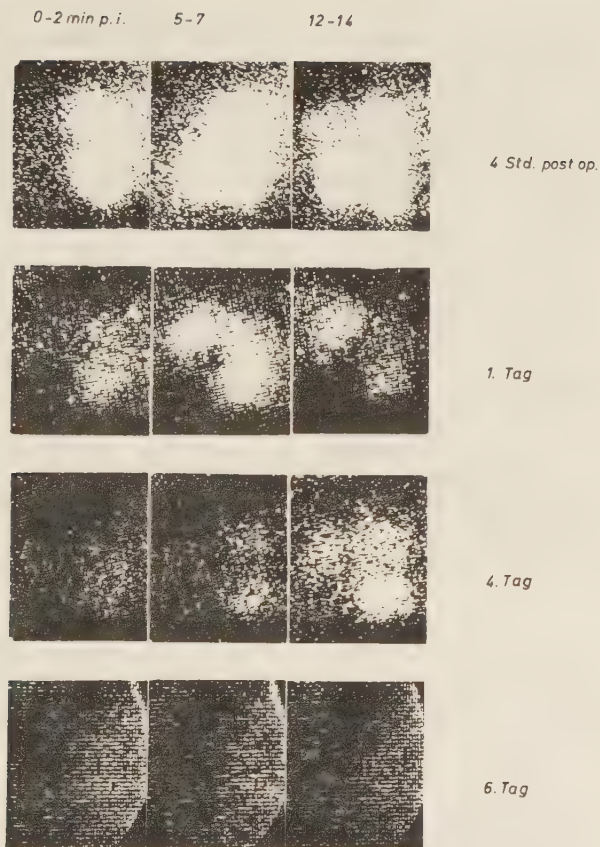


Abb. 9: Kamerafunktionsszintigraphie bei einem mit PIGG behandelten Beagle mit Fuchsnieren

Reihe 1:

0- 2' beide Nieren sichtbar

5- 7' beide Nieren und die Blase sichtbar

Reihe 2:

5- 7' sehr langsame Anreicherung in Nieren und Blase

12-14' Aktivitätsverlagerung in Richtung Blase

Reihe 3:

12-14' erst hier deutliche Anreicherung von Hippuran in Nieren und Blase

Reihe 4:

12-14' immer noch keine Anreicherung in Nieren und Blase

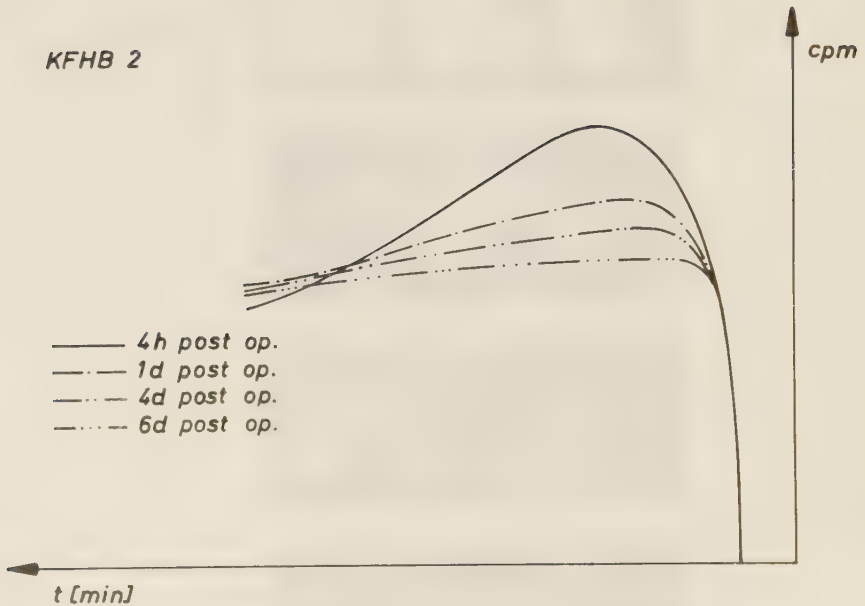


Abb. 10: Darstellung des radioaktiven Körperabfalls. Ordinate gibt die über eine Körpersonde gemessenen Impulse an. Das Bild ist von rechts nach links im Verlauf der Zeitachse zu lesen. Der Nullpunkt ist die Zeit der Injektion von Jodhippuran. Die Verteilung über die Blutwege spiegelt sich im Anstieg der Impulse wieder. Nach dem Scheitelpunkt überwiegt die Ausscheidung von Hippuran durch die Nieren. Ähnlich den Einzelbildern ergibt sich auch hier 4 h post op. ein annähernd normaler Verlauf. Die anderen Kurven werden von Tag zu Tag schlechter; die Nieren können die radioaktiven Substanzen nicht mehr aus dem Blutkreislauf ausscheiden.

Um die Serumwerte mit den nuklearmedizinischen Ergebnissen vergleichen zu können, wurden die Blasenerscheinungszeit, die Clearance und der Serumkreatininwert aufgetragen (Abb. 11). Je schlechter die Clearance, umso mehr steigt der Kreatininwert.

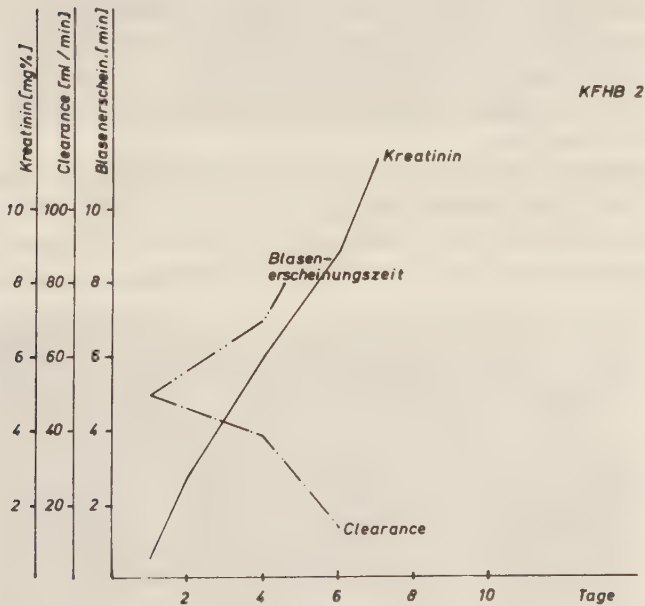


Abb. 11: Blasenerscheinungszeit, Clearance und Kreatininwerte, bezogen auf die Versuchszeit.

3.3.1.5 Histologie

Die Gefäße, vor allem Arterien, Arteriolen und Kapillaren wiesen häufig stenosierende bis obliterierende fibrinoide Thromben auf. Die Gefäßwände waren teilweise granulocytär infiltriert. Auffällig war die starke intravasale Granulocytenvermehrung (Abb. 12).

Ausgedehnte Tubulusabschnitte waren nekrotisch. In den Tubuluslumina befanden sich zum Teil Zylinderquerschnitte aus Granulocyten, Erythrocyten und Eiweiß. Es lag eine hämorrhagische Parenchymnekrose in Mark und Rinde vor (Abb. 13).

Am deutlichsten erschienen bei KFHB 7 die Zeichen einer zellulären Abstoßung.

Die ausgedehnten Parenchymnekrosen sind wahrscheinlich auf humorale Reaktion zurückzuführen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß histologisch sowohl eine zelluläre als auch humorale Abstoßung nachweisbar ist.

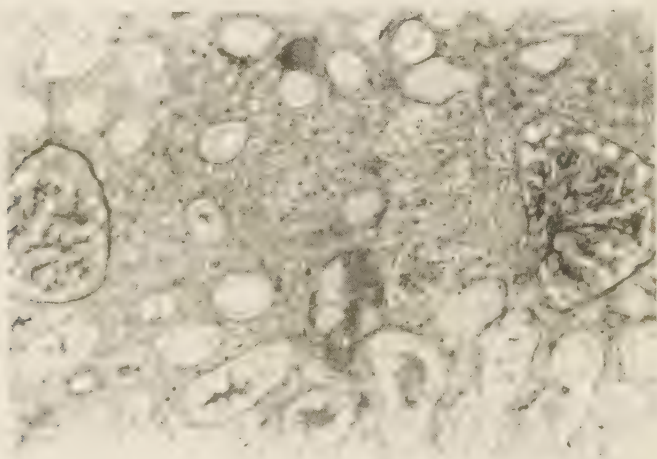


Abb. 12: Lumen- und Gefäßwandveränderungen im Parenchym einer auf einen Beagle transplantierten Fuchsniere (KFHB 7) nach 10 Tagen Überlebenszeit. Färbung: PAS, Vergr. 10fach.

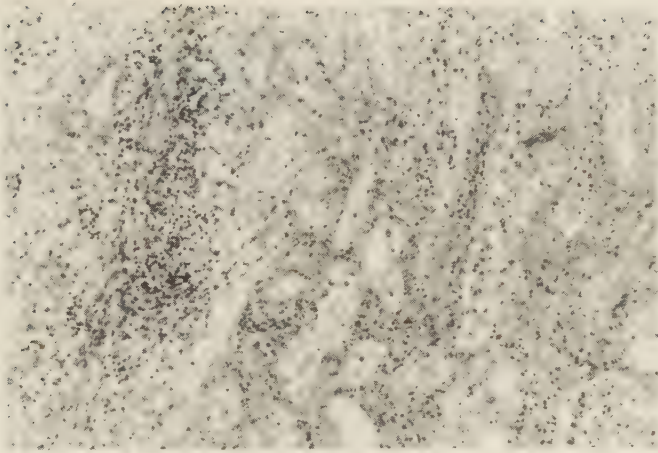


Abb. 13: Hämorrhagische Parenchymnekrose einer auf einen Beagle transplantierten Fuchsniere (KFHB 3) nach 7 Tagen Überlebenszeit. Färbung: HE, Vergr. 10fach.

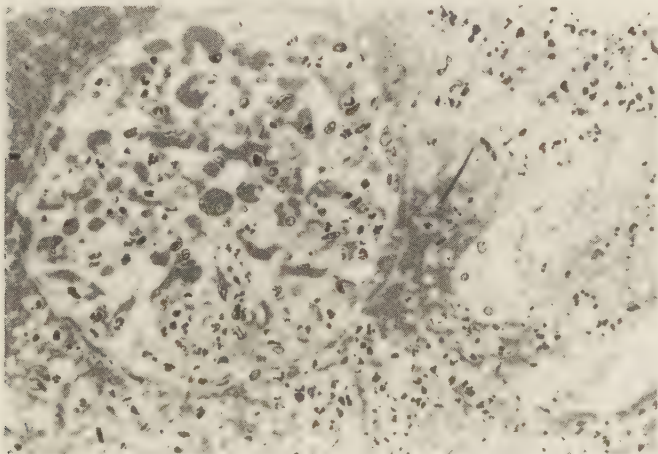


Abb. 14: Vermehrt segmentkernige Granulocyten im Glomerulum einer Fuchsniere, deren Empfänger nach 10 Tagen verstarb (KFHB 7). Färbung: PAS, Vergr. 25fach.

3.3.2 Behandlung mit Antilymphocytenglobulin (ALG) und Antimakrophagenserum (AMS) nach Nieren- transplantation (Gruppe 5)

3.3.2.1 Ergebnisse der Serumuntersuchungen

Die immunsuppressive Therapie in Gruppe 5 wurde von Tag -3 bis zum Exitus mit einer Kombination von ALG und AMS durchgeführt. Die Behandlung (Tab. 15) bewirkte bis zur Transplantation einen starken Abfall der Leukocyten und der Thrombocyten. Post transplantationem ergab sich nach sprunghaftem Anstieg der weißen Blutkörperchen ein konkaver Kurvenverlauf. Bei zwei Versuchstieren wurde an Tag 16 und 18 nochmals ein Abfall gemessen. Die Thrombocytenzahl pendelte nach Tag 2 um ca. $180\ 000/\text{mm}^3$. Der Hämokrit fiel während der Versuchsdauer um 20-30 %. Die Lymphocyten wiesen, wie bereits bei der Kontrollserie große Toleranzen auf. Der Mittelwert (Ausgangswert gleich 100 %) fiel (Abb. 15) bis zum Tag 0 um ca. 60 % ab. Nach der Transplantation war ein Anstieg zu beobachten. Von Tag 1 bis 4 trat ein Plateau bei ca. 80 % des Ausgangswertes auf. Es folgte, bedingt durch die immunsuppressive Behandlung, ein Abfall auf ca. 25 %. Von Tag 8 bis zum Exitus stieg die Lymphocytenzahl erneut rasch an. Nur die Versuchstiere FHB 2 und 6 zeigten nach einigen Schwankungen fallende Tendenz. Dies war die Ursache für die große mittlere Fehlerbreite.

Die Kreatinin- und Harnstoffwerte stiegen bis Tag 4 bzw. Tag 6 an. An Tag 10 hatten beide Kurven ein Minimum von $2,8 \pm 0,4$ bzw. 202 ± 32 mg% erreicht, das bis Tag 14 bzw. 16 in ein Plateau auslief. Kurz vor dem Tod der Versuchstiere stiegen die Werte steil an.

Die Versuchstiere FHB 3 und 5 fielen aus dem allgemeinen Verlauf und wurden deshalb bei den Mittelwertsberechnungen von Tag 6 an nicht mehr berücksichtigt. FHB 3 zeigte zwar den typischen Verlauf, die Überlebenszeit war jedoch sehr

kurz (Tab. 15). Die Messung der Serumelektrolyte erbrachte keine spezifisch deutbare Verlaufsänderung während der Versuche.

Die Serumeiweißkonzentration und die Serumosmolarität verhielten sich unauffällig.

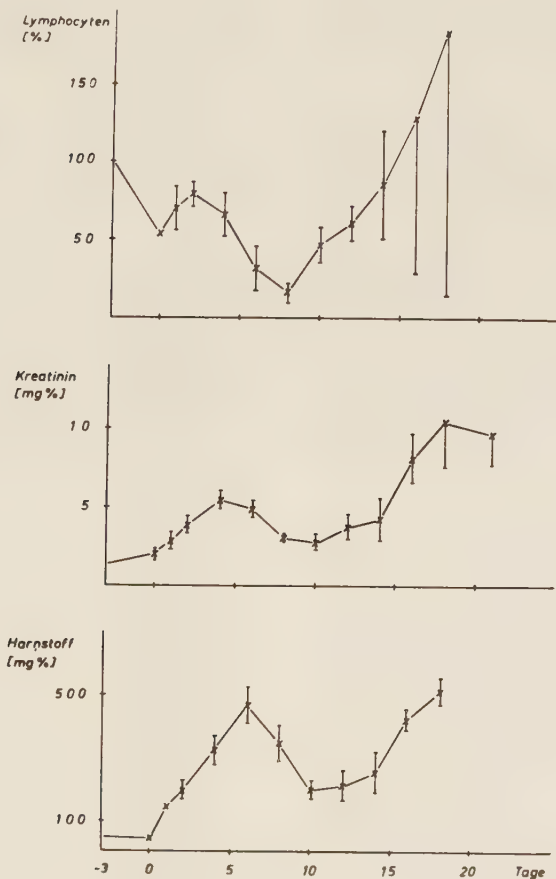


Abb. 15: Lymphocyten-, Kreatinin- und Harnstoffmittelwerte der Versuchsgruppe 5 (Fuchsnieren auf Beagles transplantiert und mit ALG und AMS immunsuppressiv behandelt).

Tag	-3	0	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Leukocyten $\times 10^3$	21,4 $\pm$ 3	12,5 $\pm$ 0,8	32,7 $\pm$ 4,3	28,2 $\pm$ 4,7	21,9 $\pm$ 2,6	13,5 $\pm$ 1,0	10,8 $\pm$ 1,4	15,8 $\pm$ 2,4	17,6 $\pm$ 2,9	23,2 $\pm$ 3,8	27,7 $\pm$ 11,1	35 $\pm$ 30,3
Thrombocyten $\times 10^3$	388 $\pm$ 63	141 $\pm$ 15	114 $\pm$ 14	164 $\pm$ 26	221 $\pm$ 21	237 $\pm$ 59	186 $\pm$ 67	158 $\pm$ 30	133 $\pm$ 21	171 $\pm$ 24	209 $\pm$ 69	228 $\pm$ 18
HE	39,6 $\pm$ 2,1	36,6 $\pm$ 1,9	37,3 $\pm$ 3,0	32,7 $\pm$ 1,5	30,8 $\pm$ 0,9	30,1 $\pm$ 1,0	27,9 $\pm$ 2,5	28,2 $\pm$ 0,7	27,9 $\pm$ 0,7	27,8 $\pm$ 1,3	28,5 $\pm$ 2,0	30,8 $\pm$ 0,8
Lymphocyten %	100	53,7 $\pm$ 6,0	70,2 $\pm$ 15,6	79,1 $\pm$ 8,0	66,0 $\pm$ 15,6	31,8 $\pm$ 15,4	17,0 $\pm$ 6,1	26,3 $\pm$ 11,4	60,5 $\pm$ 11,5	85,6 $\pm$ 35,2	129,2 $\pm$ 101,3	105,7 $\pm$ 170,7
Kreatinin	1,3 $\pm$ 0,18	2,02 $\pm$ 0,48	2,94 $\pm$ 0,6	3,99 $\pm$ 0,53	5,5 $\pm$ 0,57	4,88 $\pm$ 0,62	3,1 $\pm$ 0,35	2,78 $\pm$ 0,35	3,75 $\pm$ 0,88	4,32 $\pm$ 1,43	8,29 $\pm$ 1,75	10,49 $\pm$ 2,75
Hämoglobin	41,6 $\pm$ 4,7	42,8 $\pm$ 3,3	148,5 $\pm$ 21,8	195,0 $\pm$ 32,2	328,2 $\pm$ 49,1	470,9 $\pm$ 62,5	348,9 $\pm$ 62,0	202,0 $\pm$ 32,0	215,3 $\pm$ 47,1	255,3 $\pm$ 65,6	425,3 $\pm$ 38,7	514,9 $\pm$ 45,4
Natrium	151 $\pm$ 2	146 $\pm$ 2	147 $\pm$ 2	145 $\pm$ 2	171 $\pm$ 17	160 $\pm$ 4	138 $\pm$ 5	159 $\pm$ 6	148 $\pm$ 3	161 $\pm$ 9		
Kalium	5,0 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,3	4,7 $\pm$ 0,3	4,4 $\pm$ 0,3	4,0 $\pm$ 0,2	3,9 $\pm$ 0,2	4,3 $\pm$ 0,5	4,2 $\pm$ 0,4	7,0 $\pm$ 2,1		
wei-	5,8 $\pm$ 0,5	5,9 $\pm$ 0,1	5,0 $\pm$ 0,5	5,1 $\pm$ 0,5	5,2 $\pm$ 0,6	6,7 $\pm$ 0,4	6,4 $\pm$ 0,5	6,5 $\pm$ 0,3	6,6 $\pm$ 0,3	6,5 $\pm$ 0,2	5,9 $\pm$ 0,2	5,7 $\pm$ 0,7
salinität		96,7 $\pm$ 6	292 $\pm$ 3,6	307 $\pm$ 6,3	328 $\pm$ 8,9	353 $\pm$ 7,2	343 $\pm$ 15,7	319 $\pm$ 9,2	323 $\pm$ 7,9	339 $\pm$ 11,4		

Tab. 15: Verhalten von physiologischen Parametern im Serum von Beagles nach Fuchsnieren-transplantation. Die Empfänger wurden immunsuppressiv mit einer Kombination von ALG und AMS behandelt. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und die mittleren Fehler an. Leukocyten und Thrombocyten müssen mit 1000 multipliziert werden. Lymphocyten werden in % zum Ausgangswert am Tag -3 angegeben.

3.3.2.2 Ergebnisse der Urinuntersuchungen

Wie schon beschrieben, konnte die Uringewinnung nicht täglich und nicht zu vergleichbaren Zeiten erfolgen (Tab. 16). Die Messungen der Harnstoffkonzentration im Urin ergaben von Tag 1 nach der Transplantation bis zum Tage der Abstoßung langsam steigende Werte. Vom Abstoßungstermin an stiegen die Harnstoffkonzentrationen bis zum Tod rasch.

Die Natriumkonzentration im Urin normalisierte sich im Mittel um den Tag 7, danach stiegen die Werte an. Kurz vor Versuchsende machte sich bei den Einzelwerten ein Natriumabfall bemerkbar.

Die Kaliumkonzentration im Urin blieb unverändert, erst kurz vor dem Tod fielen die Einzelkonzentrationen ab.

Die Mittelwerte des Eiweißes im Urin zeigten nach der Transplantation einen deutlichen Abfall. Ab Tag 10 nahm die Proteinurie zu.

Tag	+1	2	4	6	8	10	12	14
Harnstoff (mg%)	12,7 $\pm$ 4,9	14,9 $\pm$ 4,6	20,6 $\pm$ 4,7	19,8 $\pm$ 6,1	21,3 $\pm$ 6,6	25,1 $\pm$ 5,7	26,2 $\pm$ 5,7	212 $\pm$ 88
Natrium (mval/l)	88 $\pm$ 36	67 $\pm$ 32	76 $\pm$ 34	32 $\pm$ 14	31 $\pm$ 19	172 $\pm$ 170	198 $\pm$ 174	
Kalium (mval/l)	24,9 $\pm$ 8,9	24,8 $\pm$ 7,6	27,8 $\pm$ 9,5	16,7 $\pm$ 6,1	11,3 $\pm$ 4,9	11,2 $\pm$ 9,8	27,8 $\pm$ 18,2	
Osmolarität	450 $\pm$ 121	461 $\pm$ 94	480 $\pm$ 70	508 $\pm$ 20	546 $\pm$ 17	721 $\pm$ 69	714 $\pm$ 159	
U/P	1,5 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,2	1,4 $\pm$ 0,03	1,6 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,3	2,2 $\pm$ 0,5	
Protein im Urin (g%)	0,8 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,2	

Tab. 16: Verhalten von physiologischen Parametern im Urin von Beagles nach Fuchsnieren-
transplantation. Die Empfänger wurden mit ALG und AMS immunsuppressiv behandelt.
Der Quotient der Urinosmolarität zur Serumsmolarität war stets größer 1,0.

Die Osmolarität des Urins stieg stetig an. Im Gegensatz zur Kontrollserie ist hier eine laufende Steigerung des Konzentrierungsvermögens zu beobachten. Kurz vor dem Exitus war bei einzelnen Versuchstieren ein Abfall der osmotischen Werte ersichtlich; als typisches Einzelbeispiel wurde FHB 4 herangezogen.

Der Urin-Serumquotient der Osmolarität lag (Tab. 17) nur beim Versuchshund FHB 4 an Tag 1 unter 1,0.

Die übrigen Werte, auch die der Mittelwertquotienten, waren bis Tag 14 alle größer als 1,0.

Tag	1	2	4	6	8	10	12	14
FHB 4 Serum	286	300	319	350	347	312	322	356
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ Serum	292 $\pm$ 4	307 $\pm$ 6	328 $\pm$ 9	353 $\pm$ 7	343 $\pm$ 16	319 $\pm$ 9	323 $\pm$ 8	339 $\pm$ 11
FHB 4 Urin	237	428	386	524	579		552	446
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ Urin	450 $\pm$ 121	461 $\pm$ 94	480 $\pm$ 70	508 $\pm$ 20	546 $\pm$ 17	721 $\pm$ 69	711 $\pm$ 159	

Tab. 17: Osmolaritäten von FHB 4 und Mittelwerte ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) der transplantierten Beagles mit Fuchsnieren^x unter immunsuppressiver Therapie von ALG und AMS.

3.3.2.3 Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen

Die Mittelwerte der Hämolyseaktivität des Serums fielen von Tag -3 bis Tag 1 ab. Nach einem flachen Anstieg bildete sich von Tag 2 bis Tag 8 ein Plateau aus. Am Tag 10 war ein Minimum zu beobachten, ab Tag 12 bis Tag 18 lag ein Plateau von 80 % vor. Kurz vor dem Exitus stiegen die Einzelwerte des aktiven Komplements steil an (Tab. 18,19).

Aus Tab. 18 ist ersichtlich, daß weder vor noch nach der Transplantation Hämagglutinine gegen Fuchserythrocyten nachgewiesen werden konnten.

Die komplementbindenden Antikörper gegen Fuchsleber zeigten keine signifikanten Abweichungen (Tab. 18).

Hämagglutinine gegen Pferdeerythrocyten bestanden schon vor Behandlungsbeginn. Nach der Transplantation und bei fortgesetzter Behandlung kam es zu einem starken Anstieg der Hämagglutinine auf einen Titer von $9,4 \pm 0,3$.

Tag	-3	0	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Kompl. C'H50(*)	100	88,7±12,8	82,7±7,3	107,9±11,5	111,6±12,6	95,7±27,3	95,5±7,3	69,0±16,3	81,7±13,8	82,2±17,8	80,2±17,8	84,6±11,7
Häm Pferd	6,3±0,8	5,1±0,8	4,8±0,8	5,0±0,6	8,9±0,4	10,3±0,3	10,5±0,6	10,0±0,4	9,7±0,4	9,2±0,3	9,3±0,3	9,3±0,3
Häm Fuchs	0,1±0,1	0,2±0,2	0	0	0,1±0,1	0	0	0	0	0,3±0,3	0,3±0,3	1,0±1,0
KBR Leber	4,3±1,2	3,0±2,0	3,2±0,7	2,4±0,6	2,9±0,5	3,0±0,6	3,0±0,7	1,8±0,6	2,2±0,7	2,0±0,6	1,0±0	1,5±0,5
KBR Niere	2,7±1,7	2,5±2,5	1,2±1,0	3,0±1,2	2,3±1,0		2,7±0,7	2,5±1,5	2,5±0,5	2,0±1,2	1,0±0,6	

Tab. 18: Verhalten immunologischer Parameter im Serum von Beagles mit Fuchsnieren unter Kombinationstherapie von AIG und AMS. Die Mittelwerte des aktiven Komplements sind in % angegeben. Der Wert vor Behandlungsbeginn ist gleich 100 % gesetzt. Die Hämagglutinationen und Komplementbindungsreaktionen sind in Potenzen zur Basis 2 im Mittelwert mit mittlerem Fehler angegeben.

Tag	-3	0	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	19
FHB 2	100	82,7	82,7					43	39,5	44,9	46,8	61,3	
FHB 3	100	100,7	100,7	108,4	89,1	85,9	89,1		175				
FHB 4	100	114,1	70,8	107,2	144,6	148,0	111,0		113,1		184,9		
FHB 5	100		81,5	163,7	166,2	(175)	(96,9)		(106,7)		(183,3)		
FHB 6	100	54,4	56,7	72,2	107,2	55,9	86	44,5	42,0	37,8	52,4	64,0	
FHB 7	100	101,2	104,7	104,5	86,5	83,2			87,3	90,4	107,4	94,0	162
FHB 8	100		108,1	121,7	114,3		104,5	112,2	117	109,9	114,3	98,6	123
FHB 9	100	84,9	56,3	77,4	73,4		80,4	76,2	91,2	128,2			

Tab. 19: Einzelwerte des Komplements C'H 50 in % zum Ausgangswert angegeben.

3.3.2.4 Nierenfunktionstest

Am Versuchshund FHB 8 sollten die Untersuchungsergebnisse mit nuklearmedizinischen Methoden demonstriert werden. Die Clearance für Hundenieren betrug bei gesunden Tieren ca. 120 ml/min. Nach der Transplantation (Tag 1) ergab sich ein Mittelwert von $35,4 \pm 7,26$ ml/min. In einigen Fällen stieg die Clearance stetig an, fiel jedoch meist, wie aus Abb. 16 ersichtlich, zunächst ab und erreichte den Maximalwert zwischen Tag 8 und Tag 12 post op. Nach dem Einsetzen der Abstoßungsreaktion verschlechterte sich der Clearance-Wert sehr schnell und ließ sich schließlich

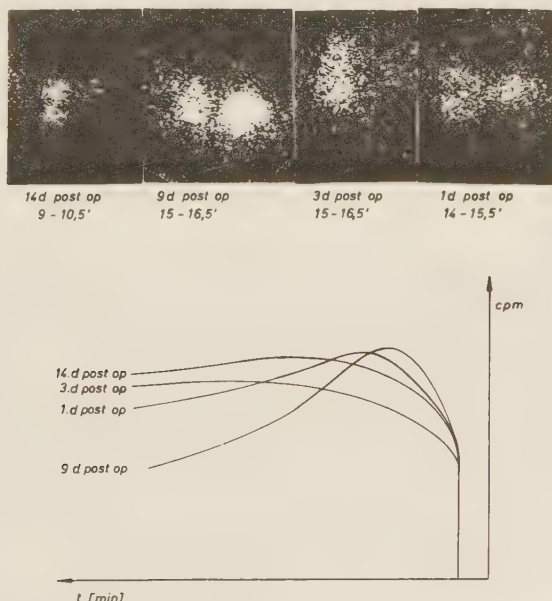


Abb. 16: Kamerafunktionsszintigraphie bei einem mit ALG und AMS behandelten Hund.

- 1.Tag post op.: mäßige Hippurantransportstörung als Folge der Operation
- 3.Tag post op.: Funktionsverschlechterung der Nieren
- 9.Tag post op.: nahezu normales Nierenfunktionsverhalten
- 14.Tag post op.: erneute Funktionseinschränkung; als Abstoßungszeichen zu bewerten

nicht mehr ermitteln. Analog zur Clearance verhielt sich die Erscheinungszeit der Blase auf dem Szintillationsschirm.

Der Vergleich der Serumkreatininwerte mit den Clearancewerten und den Blasenerscheinungszeiten (Abb. 17) ergab, daß die Clearance ungefähr einen bis drei Tage früher auf Änderungen der Funktion der Nieren schließen ließ. Ein genauer zeitlicher Abstand konnte bis jetzt noch nicht angegeben werden. Zu Abb. 17 muß einschränkend gesagt werden, daß nur 5 Clearancewerte vorhanden waren und diese Verbindungslinien deshalb nicht den wahren Zwischenwert angeben können.

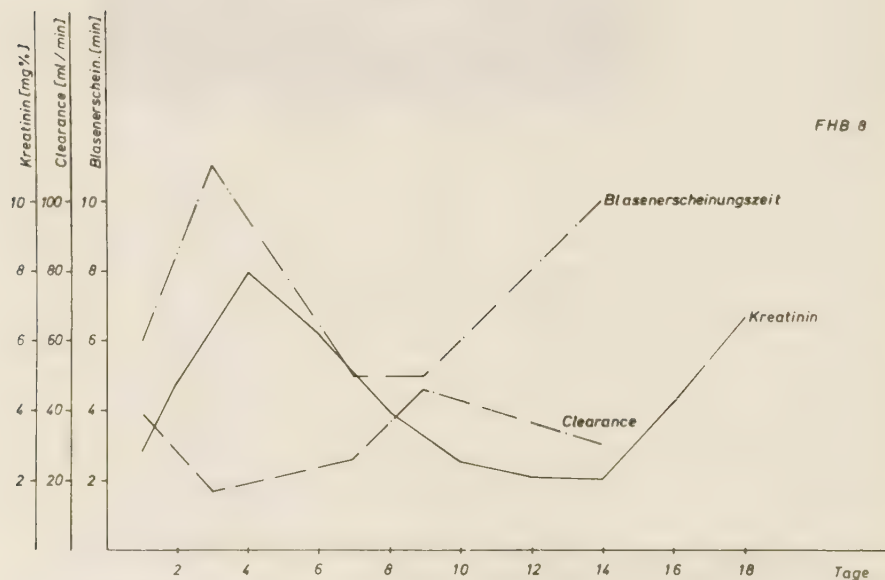


Abb. 17: Blasenerscheinungszeit, Clearance und Kreatininwerte über die Versuchszeit von Beagles, denen Fuchsnieren transplantiert worden waren. Die immunsuppressive Therapie wurde mit einer Kombination von ALG und AMS durchgeführt.

3.3.2.5 Histologie

Bei fast allen Versuchstieren lagen hämorrhagische Nekrosen der Markaußenzone und überwiegend anämische Nekrosen der Rinde vor. Ausgespart waren in drei Fällen (FBH 3,6 und 9) die juxtamedullären Rindenanteile. Gefäßwände waren nicht eindeutig verändert, perivasaal lagen Rundzellinfiltrationen vor, die trotz des Überwiegens der Plasmazellen auf eine gering- bis mittelgradige zelluläre Transplantationsreaktion schließen ließen, die wahrscheinlich durch humorale Nekrosen überlagert war. Bei FHB 5,7 und 8 wiesen die histologischen und immunhistologischen Befunde auf humorale Abwehr hin mit geringen Zeichen zellulärer Transplantatreaktion.

Es lagen zahlreiche ausgedehnte Tubulusepithelverkalkungen vor. In den erhaltenen Rindenbezirken waren wenig segmentale fibrinoide Medianekrosen. Die Glomerulumschlingen waren kollabiert, z.T. waren Pyknosen der Kerne von Endothel und Mesangium vorhanden (Abb. 18).

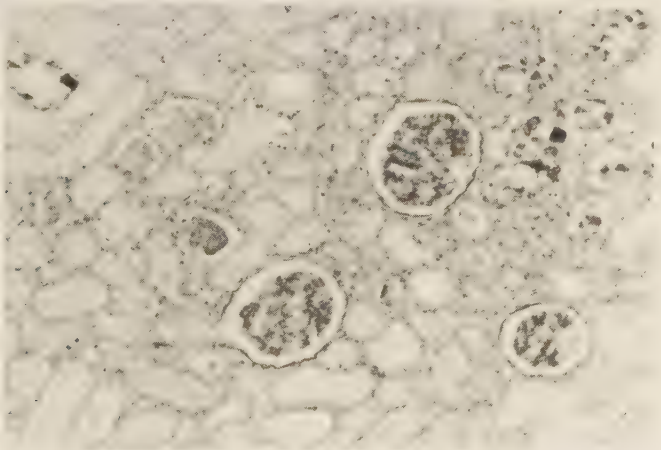


Abb. 18: Kollabierte Glomerulumschlingen einer Fuchsniere, deren Empfänger nach 17 Tagen verstarb (FHB 5). Auf diesem Schnitt sind keine Zellinfiltrate zu erkennen.
Färbung: PAS, Vergr. 10fach.

Bei einem anderen Untersuchungspräparat waren die Glomerula nicht kollabiert und es zeigten sich vereinzelt Kernpyknosen im Endothel sowie im Mesangium. Perivasal und periglomerulär waren einzelne, fast ausschließlich aus Plasmazellen bestehende Rundinfiltrate vorhanden (Abb. 19).

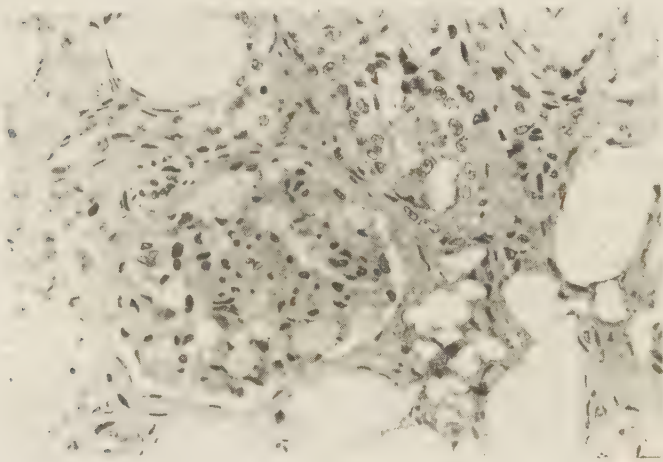


Abb. 19: Kernpyknosen und Rundzellinfiltrate in Parenchym und Glomerulum einer auf einen Beagle transplantierten Fuchsniere (FHB 6) nach 17 Tagen Überlebenszeit.
Färbung: Giemsa, Vergr. 25fach.

3.4 Nierentransplantation im "semixenogenen" System

In Tabelle 20 werden die Versuchsergebnisse der Nierentransplantationen im "semixenogenen" System dargestellt. Die allogenen Versuchsergebnisse sind zum Vergleich angeführt.

Spender	Empfänger	Immun-suppl.	n	inter-kurr. Kompl.	Überlebenszeit in Tagen	Lit.
Dingo	Beagle	---	12	6	11,5 $\pm$ 1,2	Gruppe 6
Wolf	Bastard	ALG+AMS/-	2		28/31	Gruppe 7
Hund	Hund	---	9		9,1 $\pm$ 0,8	(92)

Tab. 20: Nierentransplantationen im "semixenogenen" und allogenen System. Therapie und Überlebenszeit sind ebenso wie die Anzahl der Empfänger angegeben.

3.4.1 Transplantationsergebnisse von Dingonieren auf Beagles (Gruppe 6)

3.4.1.1 Ergebnisse der Serumuntersuchungen (Tab. 21)

Einen Tag nach der Transplantation hatte sich der Leukozytenwert gegenüber dem Ausgangswert verdoppelt. Von Tag 2 an fiel die Mittelwertskurve ab und erreichte zwischen Tag 4 und 6 wieder die Ausgangswerte. Die Einzelwerte der Leukozyten stiegen kurz vor dem Tod nochmals an. Der Anstieg der Thrombozyten kurz vor dem Tod war bei allen Versuchstieren zu beobachten. Die Zahl der peripheren Lymphocyten zeigte bis 4 Tage nach der Transplantation Werte um 100 %.

Tag	0	1	2	4	6	8	10	12
Leukocyten $\times 10^3$	15,0 $\pm$ 2,0	36,9 $\pm$ 3,3	28,7 $\pm$ 3,9	24,6 $\pm$ 6,6	38,5 $\pm$ 19,5	20,8 $\pm$ 5,8	23,4 $\pm$ 14,4	23,1 $\pm$ 15,9
Thrombocyten $\times 10^3$	323 $\pm$ 59	287 $\pm$ 36	270 $\pm$ 31	310 $\pm$ 36	337 $\pm$ 66	379 $\pm$ 115	352 $\pm$ 69	638 $\pm$ 223
HK	44,8 $\pm$ 1,0	42,5 $\pm$ 1,2	37,6 $\pm$ 2,0	33,9 $\pm$ 1,7	31,7 $\pm$ 2,8	34,0 $\pm$ 2,9	32,4 $\pm$ 2,4	34,8 $\pm$ 6,8
Lymphocyten %	100	97,3 $\pm$ 13,1	97,7 $\pm$ 12,8	108,2 $\pm$ 7,5	62,8 $\pm$ 6,2	90,0 $\pm$ 23,6	48,6 $\pm$ 8,6	57,3 $\pm$ 26,2
Kreatinin	1,35 $\pm$ 0,16	1,6 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,3	4,3 $\pm$ 1,0	9,1 $\pm$ 1,8	12,7 $\pm$ 1,8	
Harnstoff	65,1 $\pm$ 7,9	65,3 $\pm$ 5,4	64,5 $\pm$ 6,4	87,1 $\pm$ 27,7	252,2 $\pm$ 41,0	474,1 $\pm$ 74,3	760 $\pm$ 9,5	
Natrium	149 $\pm$ 3	150 $\pm$ 5	154 $\pm$ 2	152 $\pm$ 2	149 $\pm$ 2	144 $\pm$ 2	136 $\pm$ 5	139 $\pm$ 5
Kalium	4,0 $\pm$ 0,2	3,8 $\pm$ 0,1	4,0 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,4	5,6 $\pm$ 0,9	6,1 $\pm$ 0,7	9,1 $\pm$ 4,5
Eiweiß	5,8 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 0,3	5,3 $\pm$ 0,1	5,3 $\pm$ 0,2	5,7 $\pm$ 0,5	5,6 $\pm$ 0,2	5,8 $\pm$ 0,2	5,3 $\pm$ 0,3
Osmolarität	280 $\pm$ 4	280 $\pm$ 2	285 $\pm$ 3	297 $\pm$ 2	314 $\pm$ 6	336 $\pm$ 13	350 $\pm$ 19	402 $\pm$ 108

Tab. 21:

Verhalten von physiologischen Parametern im Serum von Beagles nach Dingonierentransplantation. Die Empfänger wurden nicht immunsuppressiv behandelt. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und die mittleren Fehler an. Leukocyten und Thrombocyten müssen mit 1000 multipliziert werden. Lymphocyten werden in % zum Ausgangswert am Tag 0 angegeben.

Die Betrachtung der Lymphocyten-Einzelwerte (Tab. 22) zeigte, daß drei Versuchstiere an Tag 1 nach der Operation Werte über den praeoperativen Ausgangswerten und drei Werte darunter aufwiesen. Deshalb blieb der Mittelwert um 100 %. Von Tag 4 bis Tag 6 fielen die Werte auf ca. 60 % im Mittel (Abb. 20, Tab. 22). Die Serumkonzentration von Kreatinin stieg nach der Operation langsam bis Tag 4 an. Von Tag 6 bis Tag 12 zeigte sich ein rascher Anstieg. Auch die Konzentration des Harnstoffes im Serum stieg von Tag 6 bis Tag 10 um knappe 700 mg% auf $760 \pm 9,5$ mg/100 ml Serum an. Der Versuchshund KDB 12 wurde nur bis Tag 6 in die Mittelwertsberechnung einbezogen, da von diesem Tag an seine Serumwerte stark von denen des Kollektivs abwichen. Wie sich bei der Kompatibilitätsuntersuchung zeigte, stimmen hier 3 DL-A-Spezifitäten überein. Sowohl die Kreatinin- als auch die Harnstoffkonzentrationen lagen bei KDB 12 über die gesamte Versuchsdauer im Normbereich (Abb. 20). Der Versuchshund KDB 12 zeigte histologisch post mortem keine pathologische Veränderung. Die Todesursache war eine akute, eitrige Bronchitis mit Lungenblutungen und herdförmigem Lungenödem.

Die Serumosmolarität stieg ab Tag 6 post transplantationem an, abgesehen vom Versuchstier KDB 12.

3.4.1.2 Ergebnisse der Urinuntersuchungen

Die Uringewinnung war bei dieser Versuchsgruppe besonders schwierig. Die Einzelwerte ließen sich in keiner Tabelle darstellen. Die Aussagen der Einzelwerte waren:

Die Harnstoffkonzentrationen stiegen nach einer kurzen Normalisierung von Tag 3 bis Tag 5 schnell an.

Die Eiweißkonzentration erreichte vor Versuchsende Werte von 1,4 mg%.

Die Urinosmolarität unterlag starken Schwankungen. Ab Tag 6 ließ hier bei allen Hunden die Konzentrationsfähigkeit nach.

Tag	0	1	2	4	6	8	10
KDB 2	100	67,8	114,3	98,8	74,6	129,7	---
KDB 3	100	121,2	142,7	120	61,2	60	57,1
KDB 4	100	130,7	102,4	100	70,3	---	---
KDB 9	100	70,7	91,5	92,8	55,9	162,3	---
KDB 11	100	66,1	86,9	140	36,9	53,8	---
KDB 12	100	127	48,3	97,0	77,9	44,2	40,0

Tab. 22: Lymphocyten im peripheren Blut von Beagles mit Dingenieren ohne immunsuppressive Therapie. Die Werte sind in %, bezogen auf den Wert vor der Transplantation angegeben.

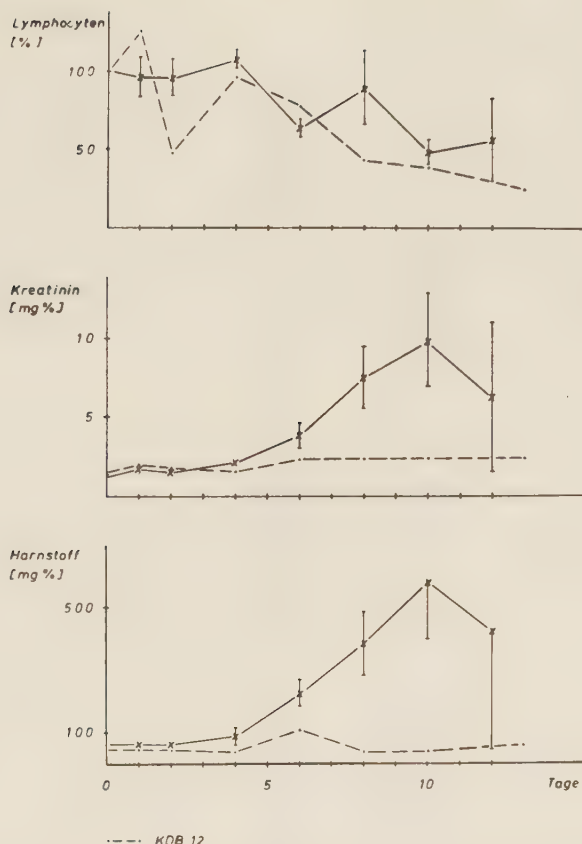


Abb. 20: Lymphocytenmittelwerte in Prozent bezogen auf den Wert bei Behandlungsbeginn. Die Kreatinin- und Harnstoffkonzentrationen sind in mg/100 ml Serum angegeben. Neben den Mittelwerten sind die mittleren Fehler eingezeichnet (Versuchsgruppe 6: Dingonieren auf Beagles transplantiert). Der Versuchshund KDB 12 wurde bei der Mittelwertbildung ab Tag 6 wegen seines abweichenden Verlaufes nicht berücksichtigt.

Tag	0	1	2	4	6	8	10	12
Kompl. C'H 50	100	79,1 $\pm$ 5,8	116,1 $\pm$ 12,6	146 $\pm$ 13,4	140,4 $\pm$ 19,9	154,5 $\pm$ 26,5	200 $\pm$ 49	222,2 $\pm$ 97,0
Häm Dingo	0	0	0	0	0	0	0	0
KBR Leber	1 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,6	1,0 $\pm$ 0,5	1,2 $\pm$ 0,6	1,3 $\pm$ 0,8	0,5 $\pm$ 0,5
KBR Niere	2,6 $\pm$ 0,9	2,5 $\pm$ 0,7	3,3 $\pm$ 0,6	3,3 $\pm$ 0,3	3,2 $\pm$ 0,3	3,4 $\pm$ 0,7	3,0 $\pm$ 0	3,0 $\pm$ 0

Tab. 23: Verhalten immunologischer Parameter im Serum bei Beagles, auf die Dingenieren transplantiert wurden (C'H 50 in %, AK als Titer-Mittelwerte).

Tag	0	1	2	4	6	8	10	12	14
KDB 2	100	78,5	90,4	106,9	108,1	90,4	151,3	---	---
KDB 3	100	62,7	77,3	170,5	228,5	242,2	245,4	---	---
KDB 4	100	76,9	100,7	122,9	140,0	---	---	---	---
KDE 9	100	103,8	192,3	192,3	157,4	175,4	311,9	319,2	---
KDB 11	100	83,5	120,7	124,9	112,8	152,2	---	---	---
KDB 12	100	69,4	115,4	158,6	95,3	112,5	91,2	125,1	163,4

Tab.: 24: Einzelwerte des Komplements C'H 50 von Beagles mit Dingonieren.
Die Werte sind in %, bezogen auf den Ausgangswert angegeben.

3.4.1.3 Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen

Die Mittelwerte des aktiven Komplements fielen am ersten Tag nach der Transplantation um 20-30 %. Am Tag 4 stieg die Kurve stark über die Norm an und blieb bis Tag 8 plateauförmig bei 140 % des Ausgangswertes (Tab. 23). Einige Tage vor dem Tod der Versuchstiere stieg die Serumaktivität weiter an (Tab. 24). Hämagglutinine gegen Dingoerythrocyten waren nicht nachweisbar. Die komplementbindenden Antikörper gegen Leber und Niere zeigten keine Auffälligkeiten im Titerverlauf.

3.4.1.4 Nierenfunktionstest

Die nuklearmedizinischen Untersuchungen werden an zwei Versuchstieren demonstriert (Tab. 25).

Der Versuchshund KDB 2 ist für diese Serie repräsentativ. Mit der Überlebenszeit von 10 Tagen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}} = 10,4 \pm 0,7$) lag er, wie auch mit den anderen Versuchsergebnissen, im Mittel.

Tag	n.Op.	1	2	4	5	8	9	11	14
Clearance KDB 2	41,5	102	104	23	10				
Erschein.d.Blase KDB 2	5'	4'	4'	20'	Ø				
Clearance KDB 12		106,5	150	149	148,1	143			
Erschein.d.Blase KDB 12		2'	6'	5'	4,5'	4'			

Tab. 25: Clearance von J-Hippuran und Blasenerscheinungszeit bei den Versuchshunden KDB 2 und KDB 12. Bei Versuchshund KDB 2 ließ sich ab Tag 9 die Blase nicht mehr darstellen. Auch die Clearance war so gering, daß sie nicht registriert werden konnte. Bei Versuchshund KDB 12 waren die Clearance und die Blasenerscheinungszeit nach 14 Tagen im Normbereich von Hunden.

Nach postoperativer Besserung des Versuchshundes KDB 2 bis

Tag 5 verschlechterte sich der radiologische Befund anschließend rasch.

An Tag 9 ließ sich keine Clearance von ^{131}J -o-Jodhippuran mehr nachweisen.

Ganz anders verhielt sich der Versuchshund KDB 12. Er zeigte bereits an Tag 4 eine Funktionsverschlechterung, danach besserte sich die Ausscheidung der Niere wieder. Die Anreicherung von Hippuran in der Niere und Blase läßt sich aus den Abb. 21 und 22 ersehen.

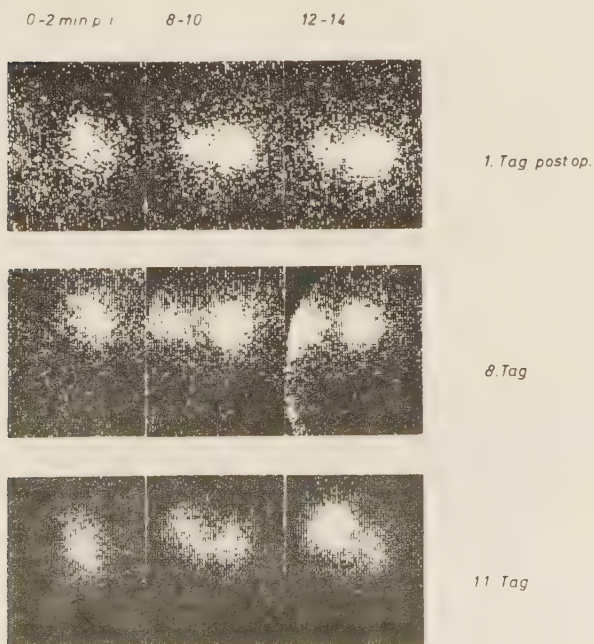


Abb. 21: Kamerafunktionsszintigramm des Versuchshundes KDB 12. Auf den Bildern zeigt sich von 0-2 min immer die Niere, was nach 11 Tagen noch gute Funktion beweist. Links neben der Niere erkennt man nach 8-10 min post injectionem die Blase.

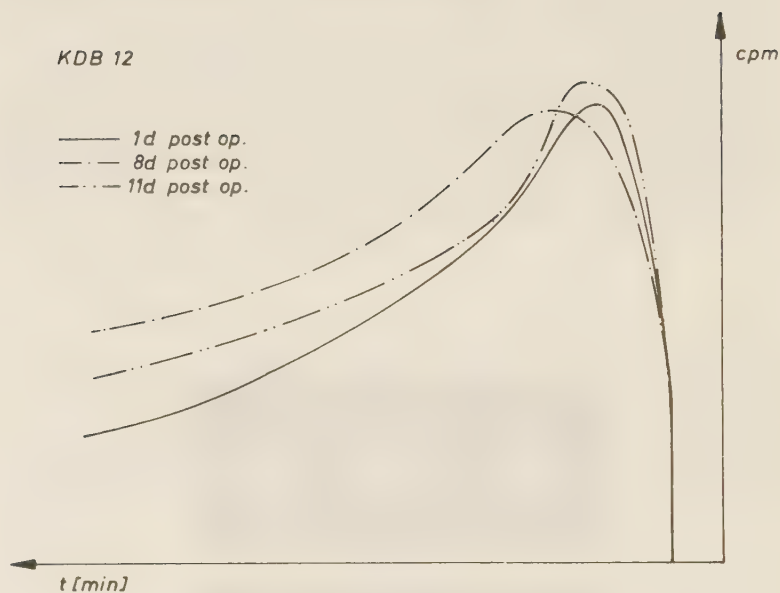


Abb. 22: Körperabfallkurven des Versuchshundes KDB 12. Die Ordinate gibt die Impulse/min an. Die radioaktive Substanz verteilt sich rasch im Körper und wird sehr schnell durch die Niere eliminiert. Bemerkenswert ist die Funktionsfähigkeit noch nach 11 Tagen.

Die für die Nierenfunktion typische Serumkonzentration von Kreatinin zeigte beim Hund KDB 12 einen Verlauf im Normbereich gesunder Tiere. Abb. 23 veranschaulicht vergleichend die Konzentration von Kreatinin mit der Clearance und Blasenerscheinungszeit.

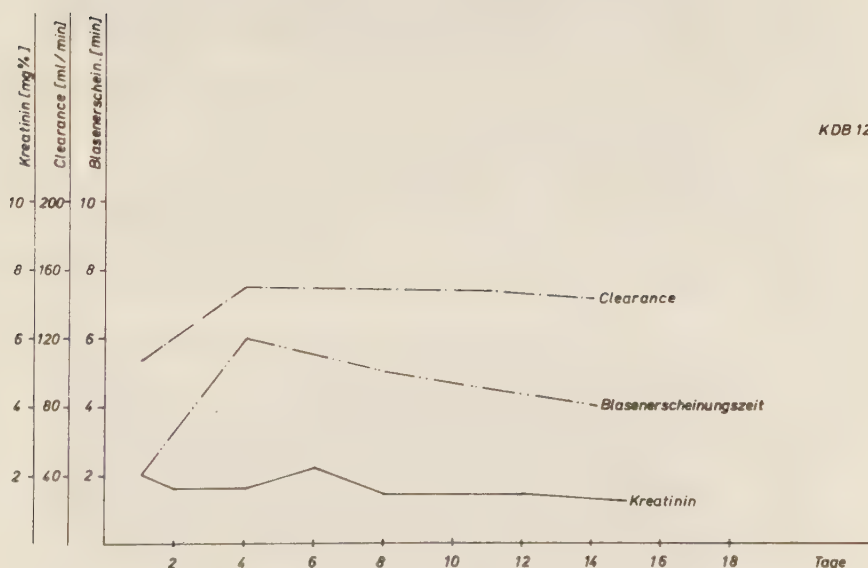


Abb. 23: Blasenerscheinungszeit, Hippuran-Clearance sowie Kreatininwerte über die Versuchszeit von 17 Tagen für den Versuchshund KDB 12, vergleichend dargestellt (Dingonieren auf Beagles transplantiert).

3.4.1.5 Histologie

Die histologisch untersuchten Nieren wiesen bei fast allen Versuchstieren in den Glomerula hyperämische Kapillaren auf, die zum Teil mit Granula gefüllt waren. Die Tubuli zeigten frische herdförmige Nekrosen, soweit die Nieren nicht total nekrotisch waren. Die erhaltenen Tubuli waren teilweise mit eiweißartigen Ausgüssen gefüllt. Zwischen den nekrotischen Tubuli befanden sich frische Granulocyteninfiltrate. Arterien und Arteriolen zeigten vereinzelt fibrinoide Wandnekrosen mit Kerntrümmern und geringer granulozytärer Reaktion in der Umgebung. An der Mark-Rinden-Grenze und in der Umgebung der Arterien fand man rundzellige Infiltrate aus Leucocyten, Plasmazellen und einige lymphoblastenartige Zellen.

Bei der Mehrzahl der Versuchsreihe KDB lagen geringe bis deutliche Zeichen einer zellulären Transplantatreaktion vor. Ebenso ließen sich schwere, nicht mehr frische Transplantatreaktionen mit Nekrosen nachweisen (Abb. 24).

Beim Versuchstier KDB 9 fanden sich keine Anzeichen für die humorale Transplantatreaktion (Abb. 25).

Das Versuchstier KDB 12 zeigte an der Niere keine pathologischen Veränderungen. Die vermutliche Todesursache beruhte auf einer akuten, eitrigen Bronchitis mit herdförmiger frischer Bronchopneumonie. Es zeigten sich ferner akute Stauungen mit kleinen Lungenblutungen und herdförmigem Lungenödem.

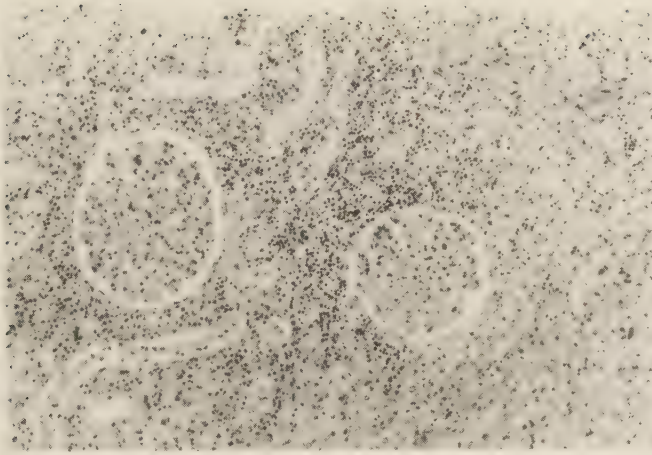


Abb. 24: Die auf einen Beagle transplantierte Dingo-
niere zeigte nach 10tägiger Überlebenszeit
mit eiweißartigen Ausgüssen verschlossene
Tubuli, in der Umgebung der Gefäße rundzel-
lige Infiltrate von Lymphocyten, Plasmazel-
len und einigen lymphoblastenartigen Zellen
(KDB 2).
Färbung: HE, Vergr. 10fach.

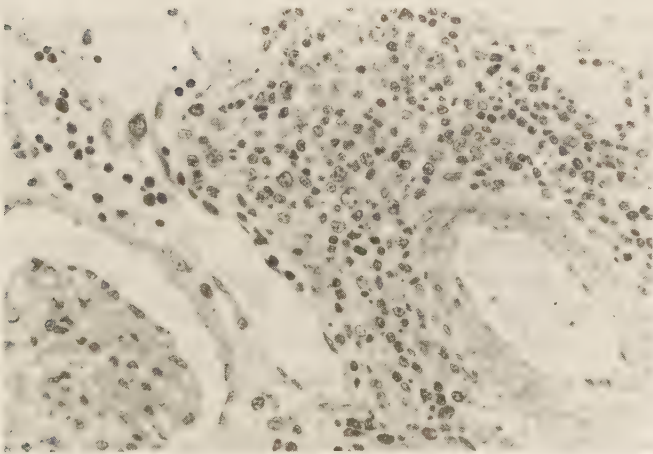


Abb. 25: Die Dingtoniere (KDB 9) zeigte 12 Tage nach
Transplantation auf einen Beagle im Bereich
der Gefäße mantelförmige Infiltrate aus lym-
phoiden Rundzellen mit Plasmazellen.
Färbung: Giemsa, Vergr. 25fach.

3.4.2 Transplantationsergebnisse von Wolfsnieren auf Schäferhundbastarde (Gruppe 2)

3.4.2.1 Ergebnisse der Serumuntersuchungen

Da für die Versuchsgruppe nur ein Wolf zur Verfügung stand, wurde einer der transplantierten Hunde nicht immunsuppressiv behandelt (KWH), während der andere Empfänger mit ALG, AMS und zeitweise mit Cortison (WH) therapiert wurde.

Beim unbehandelten Versuchstier (KWH) stiegen die Leukocyten nach der Transplantation stark, fielen bis Tag 10 und stiegen vor der Abstoßung erneut an.

Der mit Cortison, ALG und AMS immunsuppressiv behandelte Schäferhundbastard zeigte von Behandlungsbeginn (Tag -3) bis zum Tag 0 einen starken Leukocytenabfall. Dies entspricht den Ergebnissen der Gruppe 5 (ALG und AMS-Therapie). Nach der Transplantation stiegen die Werte trotzdem wieder steil an. Es zeigte sich hier keine so ausgeprägte Leukopenie wie sie bei der FHB-Versuchsreihe beobachtet wurde. Deutliche Leukocytenminima lagen an Tag 10 und Tag 22 bei nur 2000 weißen Blutkörperchen /mm³.

Die periphere Lymphocytenzahl fiel beim Versuchshund KWH (ohne Immunsuppression) nach der Transplantation bis zu Tag 2 ab und stieg dann an bis Tag 8 (250 %). Von diesem Zeitpunkt fiel die Kurve mit mehreren Schwankungen bis zum Exitus wieder ab (Tab. 26).

Der Verlauf des Versuchshundes WH zeigte bis zum Transplantationstag einen Abfall der Lymphocyten. Nach der Transplantation stieg die Lymphocytenzahl auf fast 400 % - bezogen auf den Ausgangswert vor Behandlungsbeginn - an. Bis zum Tag 12 fiel der Wert ab und stieg dann ad exitum erneut an.

Beim Versuchstier KWH erreichten die Thrombocyten am Tag 10 post operationem Minimalwerte von 85 000/mm³. Die Thrombo-

cyten des behandelten Versuchstieres unterlagen großen Schwankungen. Nach anfänglichem Abfall wurde das Ausgangsniveau erst wieder an Tag 4 erreicht. Nach einem Plateau bis Tag 8 fielen die Thrombocyten erneut. Bis Tag 16 stiegen die Thrombocyten an und fielen bis Tag 24 erneut ab (letzte Bestimmung).

Der Hämatokrit zeigte bei beiden Tieren abfallende Tendenzen mit leichten Schwankungen.

Beim Hund WH fiel der Hämatokrit so stark, daß an Tag 23 und 24 gewaschene Erythrocyten transfundiert werden mußten. Die Kreatinin- und Harnstoffkonzentrationen zeigten in beiden Fällen ähnliche Verlaufsform.

Beim Kontrolltier pendelten die Werte bis Tag 14 um ein Plateau, ab Tag 14 stiegen sie steil an. Der Kreatininwert fiel, nachdem er ein Maximum an Tag 18 erreicht hatte, bis Tag 22 ab. Hier stellte sich ein Plateau ein. Der Harnstoffwert erreichte sein Maximum erst an Tag 24, fiel dann bis Tag 27 ab und stieg anschließend wieder.

Der immunsuppressiv behandelte Hund pendelte mit seinen Kreatinin- und Harnstoffwerten um einen konstanten Betrag bis Tag 25. Von hier aus stiegen die Werte bis zum Versuchsende an.

Die Serumsmolarität stieg beim Kontrolltier an. Beim Versuchshund WH war keine größere Abweichung ersichtlich (Tab. 27).

Tag	-3	0	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	31
Leukoeyt. 10^3																		
KWH	7,7	19,4	18,5	11,8	--	--	14,4	10,5	10,0	14,0	12,2	11,4	--	19,1	22,0	20,7	18,7	18,5
WH	8	5,6	21,5	20,3	20,9	22,0	24,2	7,5	7,8	--	19,9	14,5	--	2,0	4,4	23,5	--	--
KWH	150	145	130	210	--	--	290	85	120	245	380	425	--	205	225	--	320	270
Thromboeyt. 10^3																		
WH	185	50	70	155	130	110	110	55	75	190	210	135	--	0	55	--	--	--
KWH	--	49	46	42	--	--	32	30	27	26	34	--	--	34	30	--	30	31
HK	50	54	48,5	45	42	35	30	32	25,5	28	19	--	--	16	20	27	--	--
Lymphoeyt. %																		
KWH	100	98	80,1	170,3	--	--	149,4	136,4	165,9	131,8	105,6	65,8	--	110,2	63,5	--	119,5	--
WH	100	80,5	373,5	--	339,6	--	--	103,1	48,8	--	124,4	--	--	--	--	367,2	--	--
KWH	1,14	1,47	2,12	1,74	--	--	2,04	2,12	3,59	4,24	12,24	15,18	--	9,14	10,12	--	9,96	--
Kreatinin																		
WH	1,24	--	0,97	0,90	1,38	--	1,66	1,93	2,62	--	1,72	--	--	0,69	0,97	--	3,4	--
KWH	96	147,7	191,1	161,5	--	--	160,6	159,7	286,2	230,8	479,1	692,3	--	851,1	812,3	--	941,5	--
Harnstoff																		
WH	75,7	--	64,6	49,9	72,0	--	121,9	151,4	221,5		168,0	--	--	114,5	92,3	--	510	--

Tab. 26: Verhalten von physiologischen Parametern im Serum von Schäferhundbastarden nach Wolfspnientransplantation. Der Empfänger WH wurde mit einer Kombination von Cortison, ALG und AMS therapiert. Der Empfänger KWH wurde nicht immunsuppressiv behandelt. Die Leukozyten und Thrombozyten müssen mit 1000 multipliziert werden. Lymphozyten werden in % zum Ausgangswert am Tag -3 bzw. Tag 0 angegeben.

Tag	-3	0	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	31
Natrium	KwH	160	148	148	146	--	150	159	157	146	152	146	--	143	149	--	145	156
	WH	153	--	177	165	158	--	183	160	163	156	157	--	168	170	--	--	--
Kalium	KwH	4,4	4,3	4,3	3,3	--	4,2	4,6	5,5	5,4	5,0	5,0	--	4,2	4,1	--	3,8	3,9
	WH	4,6	--	4,1	4,4	3,8	--	4,6	4,5	3,7	4,2	4,2	--	5,1	5,4	--	--	--
Eiweiß	KwH	5,8	5,0	4,9	5,0	--	5,5	4,8	4,7	5,7	5,4	6,0	--	6,3	6,0	--	5,9	--
	WH	6,9	7,2	5,8	6,1	6,8	--	7,0	6,9	6,6	6,2	6,2	--	5,3	4,8	--	4,8	--
Osmolarität	KwH	294	287	281	282	--	290	292	308	308	308	351	--	373	376	--	386	--
	WH	273	270	283	282	278	--	291	298	310	305	305	--	292	289	--	310	--

Tab. 27: Verhalten von physiologischen Parametern im Serum von Schäferhundbastarden nach Wolfshierentransplantation.
Der Empfänger WH wurde mit einer Kombination von Cortison, AIG und AMS therapiert. Der Empfänger KWH wurde nicht immunsuppressiv behandelt.

3.4.2.2 Ergebnisse der Urinuntersuchung

Das Kontrollversuchstier KWH zeigte bei der Urinuntersuchung bis zu Tag 24 eine abfallende Harnstoffkonzentration, die von hier aus plateauförmig bei ca. 1,3 mg% weiter lief. Die Harnstoffkonzentrationskurve fiel beim Versuchstier WH bis Tag 11, bis Tag 24 zeigten sich leichte Schwankungen, ab Tag 25 ad exitum fielen die Harnstoffkonzentrationen stark ab.

Bei KWH hatte die Natriumkonzentration bis Tag 24 ansteigende Tendenz. Ab Tag 25 fiel die Konzentration ab und stieg vor dem Tode erneut an.

Die Natriumkonzentration des Versuchshundes WH hatte Minimalwerte an Tag 3 und Tag 19, sonst verlief die Kurve wie bei KWH.

Die Urinkaliumkonzentration fiel bei KWH ab Tag 5 nach der Transplantation. Von Tag 8 an zeigte sie leichte Schwankungen, wogegen die Kaliumkonzentration im Urin beim Versuchshund WH stark schwankte und gegen Versuchsende rasch fiel.

Die Osmolarität des Urins nahm bei beiden Tieren während der Versuchsdauer ab (Tab. 28).

3.4.2.3 Immunologische Untersuchungen

Das aktive Komplement des Versuchstieres KWH unterlag großen Schwankungen (über 100 %). Kurz vor dem Tode stieg die Kurve steil an (260 %). Beim Hund WH lagen die Werte mit ca. 85 % in den ersten Tagen nach der Transplantation niedriger. Die Schwankungsbreiten des aktiven Komplements waren geringer. Von Tag 16 bis Tag 22 stiegen die Werte stark an und fielen nach kurzem Plateau gegen Versuchsende ab (Tab. 29).

Tag		1	2	3	5	8	11	14	19	24	26	28	31
Harnstoff	KWH	8,4	3,5	---	5,2	3,9	1,3	2,6	---	1,3	1,1	1,5	1,7
	WH	8,7	---	2,5	8,1	2,3	3,2	1,1	3,2	3,7	1,0	0,4	---
Natrium	KWH	15,5	13,5	---	18,8	27,8	11,5	34,8	---	53,5	26,8	31,0	42,5
	WH	96	---	35	109	98	144	169	50	305	540	528	---
Kalium	KWH	65,5	71,6	---	61,2	25,8	6,8	28,9	---	26,5	22,0	45,8	31,3
	WH	20,0	---	32,4	48,3	28,8	51,7	38,3	10	94,5	15,3	7,1	---
Osmolarität	KWH	1415	652	---	950	742	236	530	---	412	272	412	356
	WH	1600	---	845	1600	---	---	342	718	850	770	332	---
Prot.im Urin	KWH	---	0,39	---	0,35	0,35	0,19	0,27	---	0,19	0,12	0,23	0,35
	WH	1,5	---	0,45	0,94	0,38	0,38	0,19	0,19	0,19	1,81	3,72	---

Tab. 28: Verhalten von physiologischen Parametern im Urin bei Schäferhundbastarden nach Wolfslirertransplantationen.
Der Empfänger WH wurde mit einer Kombination von Cortison, ALG und AMS therapiert. Der Empfänger KWH wurde nicht immunsuppressiv behandelt.

Tag	-3	0	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
Kompl. O'H 50		100	--	128,3	203,2	--	138,4	132,2	118,8	172,9	158,9	190,5	--	83,2	126,5	--	250	251
WH	100	83,2	88,3	101,9	74,7	--	89,5	104,2	92,3	37	99,5	--	--	154,5	157,3	150,3	134,6	
Häm Pferd	2	2	1	2	7	--	9	8	9	--	7	--	--	7	6	6	6	

Tab. 29: Verhalten immunologischer Parameter im Serum bei Schäferhundbastarden nach Wolf-nierentransplantation. Der Empfänger WH wurde mit einer Kombination Cortison, ALG und AMS therapiert. Der Empfänger KWH wurde nicht immunsuppressiv behandelt.

Vor Behandlung und Transplantation waren beim Versuchstier WH keine oder geringe Titer an Hämagglutininen gegen Pferdeerythrocyten ausgebildet. Von Tag 4 bis zum Tod des Tieres ließen sich deutlich ansteigende Hämagglutinine nachweisen. Tab. 29 gibt die Titerstufen der Hämagglutinine an.

Hämagglutinine gegen Wolfserythrocyten wurden nicht bestimmt.

3.4.2.3 Nierenfunktionstest

Tabelle 30 stellt die nuklearmedizinischen Untersuchungsergebnisse dar. Die Niere des Kontrollhundes KWH zeigte nach der Transplantation einen hohen Clearancewert. Beim Versuchstier WH erholte sich die Niere erst langsam. Auffallend war der hohe Clearancewert (WH) am Tag 24.

Tag	0	3	4	7	8	14	18	21	22	24
Clearance KWH	154	124		137	161	59	35,0		--	
Ersch.d.Blase KWH	3'	4'		5'	5'	20'	>20'			
Clearance WH	108		98			124		232		230
Ersch.d.Blase WH	2'		6'			6'		4'		4'

Tab. 30: ¹³¹J-Hippuranclearance und Blasenerscheinungszeit nach i.v. Applikation von ¹³¹J-Hippuran bei den Versuchshunden KWH (ohne immunsuppressive Therapie) und WH (mit Cortison, ALG und AMS behandelt). Den Schäferhundbastarden wurde je eine Wolfsniere transplantiert.

Besonders deutlich spiegeln sich die Unterschiede der beiden Versuchstiere durch Vergleich der Abb. 26 und Abb. 27 wieder.

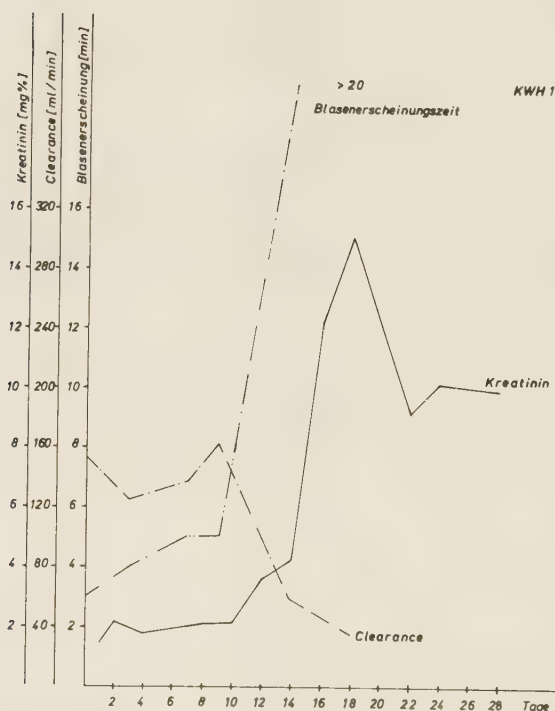


Abb. 26: Blasenerscheinungszeit, Clearance und Kreatininwerte über die Versuchszeit von KWH (Schäferhundbastard mit Wolfsniere ohne immunsuppressive Therapie).
Ab Tag 14 ließ sich die Blase nach mehr als 20 min nicht darstellen. Der Clearancewert fiel zu diesem Zeitpunkt stark ab. Erst nach 2 Tagen stieg auch der Kreatininwert.

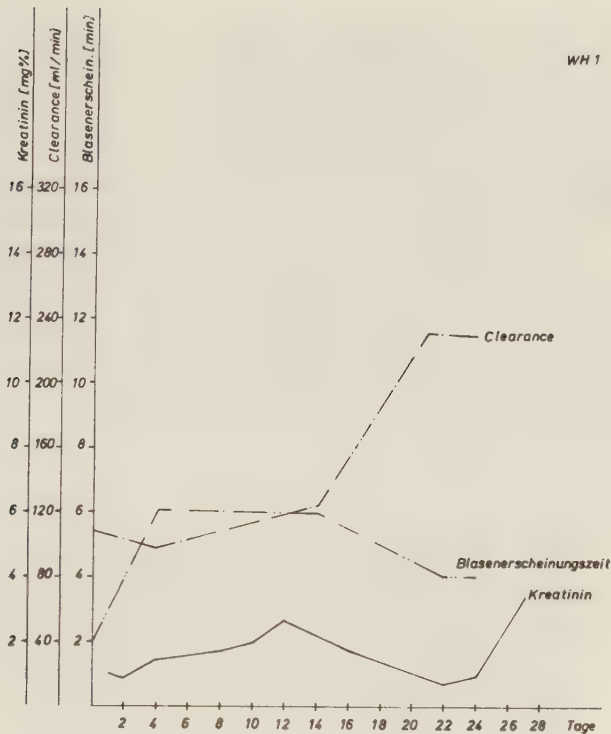


Abb. 27: Blasenerscheinungszeit, Clearance und Kreatininwerte über die Versuchszeit von WH (Schäferhundbastard mit Wolfsniere immunsuppressiv behandelt).

Die Funktion der Niere verbesserte sich ab Tag 14 und erreichte an Tag 20 einen sehr guten Funktionswert. Auch die Blase stellte sich auf dem Szintillationsschirm dar. Der Kreatininwert lag im Normbereich von gesunden Hunden. Es läßt sich deshalb annehmen, daß das Versuchstier WH nicht an Nierenversagen, also nicht an Urämie verstarb. Dies ergaben auch die histologischen Untersuchungen.

3.4.2.4 Histologie

Das Kontrolltier KWH zeigte am Gefäßsystem mäßig diffuse Kapillar-Hyperämie. In die Media mehrerer Arterien waren Granulocyten und Erythrocyten eingelagert, teilweise traten fibrinoide Wandnekrosen auf. Das Interstitium enthielt diffuses Ödem und ausgedehnte mononukleäre Zellinfiltrate. Der Befund entsprach einer schweren akuten Transplantatreaktion (Abb. 28). Beim Versuchshund WH fanden sich am Gefäßsystem keine pathologischen Veränderungen. Alle Hauptstückepithelien zeigten, ebenso wie einige Mittelstückabschnitte, im Tubulusbereich frische, meist reaktionslose Nekrosen (Abb. 29).

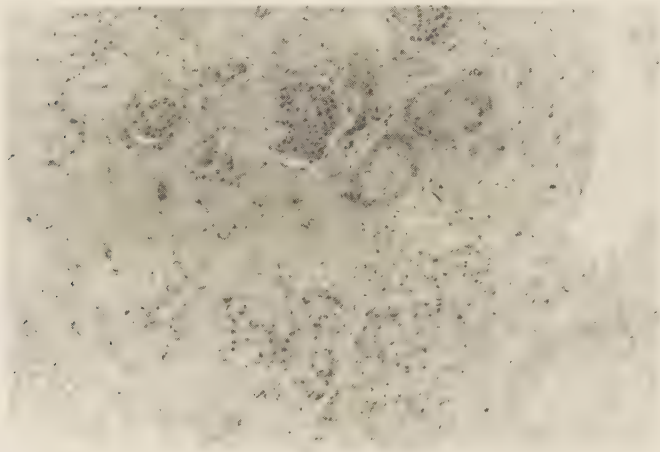


Abb. 28: Wolfsniere nach Transplantation auf Schäferhundbastard ohne immunsuppressive Therapie (Versuchsdauer 31 Tage). Im Glomerulum geringe Zellvermehrung, verbreitertes Mesangium, geschlängeltes Verlaufs der Basalmembran. Im Interstitium diffuses Ödem und ausgedehnte mononukleäre Zellinfiltrate.
Färbung: Giemsa, Vergr. 25fach.

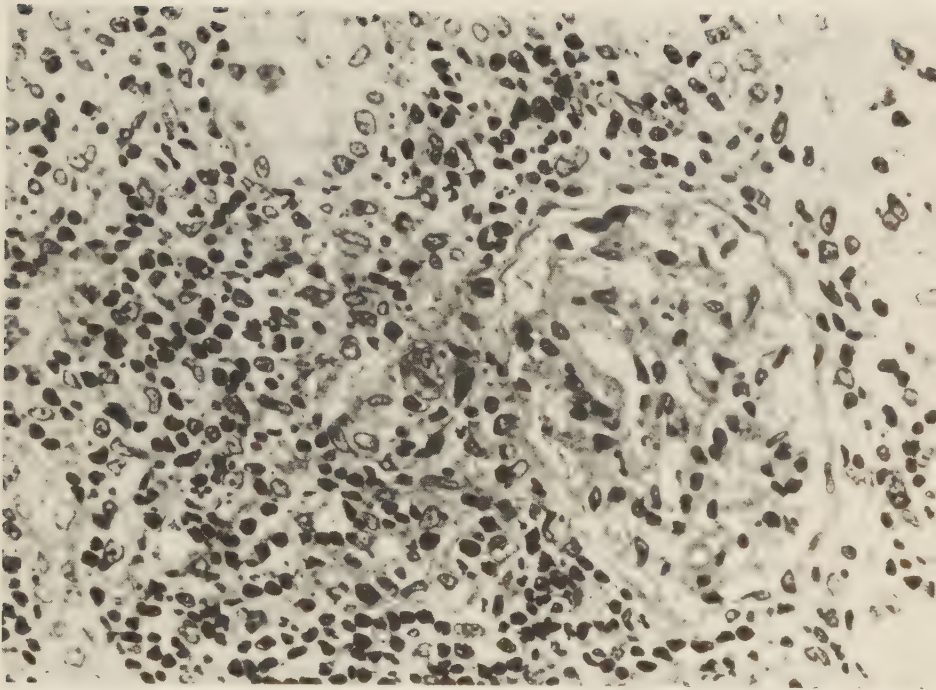


Abb. 29: Wolfsniere nach Transplantation auf Schäferhundbastard mit immunsuppressiver Therapie (Versuchsdauer 28 Tage). Kapselsynechien der Glomerula, im Tubulusbereich frische, weitgehend reaktionslose Nekrosen, stellenweise Eiweißzylinder und Zelldetritus in den Tubuluslumina.
Färbung: PAS, Vergr. 10fach.

Der Befund entsprach einer finalen, wahrscheinlich ischämisch bedingten Tubulusnekrose.

Da makroskopisch Stippchen im Mesenterium zu finden waren und den Schluß auf eine Pankreatitis nahelegten, wurden Pankreas, Mesenterium, Lymphknoten und Lunge entsprechend untersucht.

Mikroskopisch ließ sich eine Entzündung des Pankreas nicht nachweisen. Es handelte sich wahrscheinlich um Fettgewebsnekrosen, die durch Zirkulationsstörungen, als Folge einer massiven Pneumonie, hervorgerufen wurden. Die Veränderungen in der Niere sind mit großer Sicherheit auf die gleiche Ursache zurückzuführen.

4 Diskussion =====

4.1.1 Verwendete Empfänger-tiere

Für die Versuche wurden hauptsächlich Hunde der Rasse Beagle verwendet. Sie besaßen für die beschriebenen Untersuchungen folgende Vorzüge:

1. Bereits vorliegende tabellarische Reihenuntersuchungen über Blutbilder und Serumwerte in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht erleichterten die Beurteilung der Ergebnisse (1,118).
2. Die verwendeten Tiere waren hochgradig ingezüchtet. Es ergab sich damit ein homogenes Empfänger-tier-Spektrum.
3. Die Größenverhältnisse für die Transplantation von Fuchs- und Dingonieren waren günstig.

4.1.2 Transplantationsergebnisse zwischen einzelnen Spezies von Caniden.

Calne (18) beschrieb Überlebenszeiten bei allogenen Nieren-Transplantationen im System Bastardhund auf Bastardhund von 5-9 Tagen. Dempster hatte analoge Werte (29). Pichlmayer (92) erwähnte $9,1 \pm 0,8$ Tage bei Maximalüberlebenszeiten von 14 Tagen ohne immunsuppressive Therapie. Westbrook (119) zeigte mit Beagles aus dem gleichen Wurf, wie bedeutend der Einfluß der Histokompatibilität auf die Überlebenszeit von allogenen Nierentransplantaten war (106,116, 119). Bei Identität der DL-A Spezifitäten wurden Überlebenszeiten von 43,5 Tagen und bei völliger Disparität von 15,5 Tagen ermittelt (115,116).

Rubinstein (104) verglich allogene Hauttransplantationen zwischen Bastardhund auf Bastardhund und Beagle auf Beagle. Seine Versuche ergaben, daß Hauttransplantate auf Bastardhunde, die nicht aus dem gleichen Wurf waren, zwischen dem 8.

und 11. Tag post op. abgestoßen wurden. Bei nicht verwandten Beagles wurde die Haut von 90 % der Versuchstiere zwischen Tag 8 und Tag 13 abgestoßen. Im Gesamtbild zeigte sich für Beagles eine längere Transplantatüberlebenszeit, die von Rubinstein auf die bessere Histokompatibilität zurückgeführt wurde.

Der Wechsel von Bastardhunden auf eine hochgradig ingezüchtete Hunderasse zur Nierentransplantation schien gerechtfertigt, da aufgrund der immungenetischen Untersuchungen gezeigt werden konnte, daß in den Systemen Fuchs-Bastardhund und Fuchs-Beagle vergleichbare genetische Disparität besteht. Die Transplantatüberlebenszeit kann also nicht im positiven Sinne beeinflußt werden (104). Deshalb können die vorhandenen Untersuchungen mit den bereits beschriebenen Ergebnissen von Bastardhunden verglichen werden. Im System Dingo-Beagle wäre entwicklungsgeischichtlich die Möglichkeit einer größeren Konkordanz gegeben, was die Transplantatüberlebenszeit unter Umständen im positiven Sinn beeinflußt. Vergleichsserien mit Nierentransplantationen auf Bastardhunde existieren nicht.

Die Ergebnisse konnten deshalb mit den Nierentransplantationsergebnissen im allogenen und xenogenen System verglichen werden. Die Kontrollversuchsreihen der Nierentransplantation Fuchs-Bastardhund ohne Therapie mit einer Überlebenszeit von $6,5 \pm 0,4$ Tagen (101) und eine weitere Kontrollversuchsreihe Gruppe 5 Fuchs-Beagle unter Normalpferdegammaglobulintherapie (PIgG) mit $7,8 \pm 0,7$ Tagen sind nicht signifikant verschieden und durchaus vergleichbar.

4.2 Diskussion der genetischen Merkmale

Es zeigte sich, daß genetische Marker innerhalb einer zoologischen Familie zur Prognose der Transplantatsüberlebenszeit herangezogen werden können, wie dies aus Parallelen bei Primaten bekannt ist (9,10). Die durchgeführte Chromo-

somen- und Blutgruppenbestimmung im System Fuchs-Hund (Tab. 7 und 8) zeigte bisher keine gute Korrelation zur Überlebenszeit der Transplantate.

Die längste Überlebenszeit im System Dingo-Beagle erreichte der Versuchshund KDB 12 mit 17 Tagen. Als mögliche Erklärung kann hier die Übereinstimmung dreier DL-A Spezifitäten von Empfänger und Spender als Typisierungsergebnis angeführt werden. Es handelte sich bei dieser Transplantation um ein B-Match. Dies ist ein Einzelbefund, der nicht verallgemeinert werden kann. Als Nebenfund zeigten sich gleiche DL-Antigene bei einzelnen Hunderassen. Pudeln hatten z.B. bevorzugt die Gruppen 3-7/bl-11. Es ließ sich allerdings in diesen Fällen keine genaue Familienabstammung ermitteln, so daß Verwandtschaften nicht ausgeschlossen werden können.

Wolf, Bastardhund und Dingo hatten, verglichen mit den Beagles, mehr nicht austestbare Antigene (blanks=bl). Dies kann entweder daran liegen, daß nur Isoantisera von Beagles zur Verfügung standen, die diese Antigene nicht mehr erkannten, oder daß die Antigene bei Beagles so selten auftraten, daß keine xenogenen Antiseren dagegen gerichtet waren.

Die Antigene der Füchse ließen sich mit den vorhandenen Seren nur sehr schlecht erfassen. Meist war die Nachweisreaktion schwach. Die Summation der genetischen Merkmale, wie Chromosomen, Elektrophorese und Tissue-Typing ergab die Gewißheit, daß es sich um ein xenogenes System handelt (51,83).

Die Ergebnisse mit den eigenen xenogenen Antiseren ließen sich noch nicht klassifizieren, da zu wenig Versuche für eine Aussage vorliegen. Es ist zu erhoffen, daß sich hieraus weitere Parameter für die Transplantatüberlebenszeit ergeben.

4.3 Diskussion der Hauttransplantation

Hauttransplantationen werden häufig für Untersuchungen der Abstoßungsreaktionen, bzw. zur Testung immunsuppressiver Potenz von Medikamenten und Immunseren verwendet (13,30,89). Die Haut ist ein sekundär vaskularisiertes Organtransplantat und wird gewöhnlich durch zelluläre Abstoßung zerstört. Von der Transplantatüberlebenszeit kann im allgemeinen auf die genetische Disparität geschlossen werden (51,57,110). Im Experiment konnten bei Xenotransplantationen in nahverwandten Systemen wie Ratte-Maus und Schaf-Ziege (66) Überlebenszeiten der Hauttransplantate von 6-9 Tagen beobachtet werden. Analog dazu waren die Ergebnisse im System Fuchs-Hund. Die Überlebenszeit betrug $5,3 \pm 0,7$ Tage, $n = 10$ (Tab. 7). Eine Korrelation zwischen den genetischen Merkmalen und der Transplantatüberlebenszeit ließ sich auch hier nicht eindeutig ermitteln. Die Versuchshunde mit der längsten Fuchshautüberlebenszeit hatten alle die DL-A-Spezifität bl/5-bl bzw. bl-7/bl-11. Die getestete Histokompatibilität der Fuchshaut hatte die FL-A-Spezifität 3-7/5-bl (101).

Bei den Transplantationen von Dingohaut auf Bastardhunde ergab sich eine mittlere Überlebenszeit von $10,6 \pm 2,9$ Tagen bei $n = 9$. Dieser Wert entsprach den Ergebnissen von allogenen Hauttransplantaten bei Bastardhunden (104). Nach der Transplantation kommt es zur Kapillarsprossung. Diese schließt mit dem 6. Tag post op. ab. Bei der histologischen Untersuchung findet man zahlreiche mononukleäre Zellen. Um den Tag 8 p. op. kommt es zur Stase in den Blutgefäßen und zu einer Dilatation der Gefäße in dem Transplantat. Darauf folgen Hämorrhagien und Nekrose der Gefäße. Um den Tag 10 ist die Abstoßung beendet (15). Bei der Kombination Dingo-Hund entsprach dieses Ergebnis einem allogenen System.

Die Überlebenszeit von Wolfhaut auf Hunde betrug $12,7 \pm 2,8$ Tage bei $n = 9$. Die Transplantatüberlebenszeit mit $12,7 \pm 2,8$

Tagen war länger als die Zeiten im System Hund-Hund mit $9,1 \pm 0,8$ Tagen (92). Diese späte Abstoßung ließ sich anhand der durchgeführten genetischen Untersuchungen nicht erklären. Weder die DL-A Spezifitäten noch die Blutgruppen waren identisch. Die Reaktionen der gemischten Lymphocytenkulturen MLC waren in jedem Fall positiv (53,54).

4.4 Diskussion der Nierentransplantation im System Fuchs-Hund

Die in der Literatur (24,101) beschriebenen Nierentransplantationen im System Fuchs-Hund zeigen, daß bei Monotherapie mit Antimakrophagenserum und bei Monotherapie mit Antilymphocytenoglobulin eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit erreicht werden kann. Im Vergleich zu nicht immunsuppressiv behandelten Tieren beträgt die Verlängerung 130-150 %.

4.4.1 Kombinationstherapie

Es mußte, gestützt auf Beobachtungen anderer Autoren (74, 78), angenommen werden, daß Lymphocyten und Makrophagen unterschiedliche Antigene besitzen.

Um beide Mechanismen der Immunsuppression ausnützen zu können, wurden Versuche mit Kombinationstherapie von ALG und AMS durchgeführt. Damit glaubte man, eine wesentlich bessere Transplantatüberlebenszeit erreichen zu können.

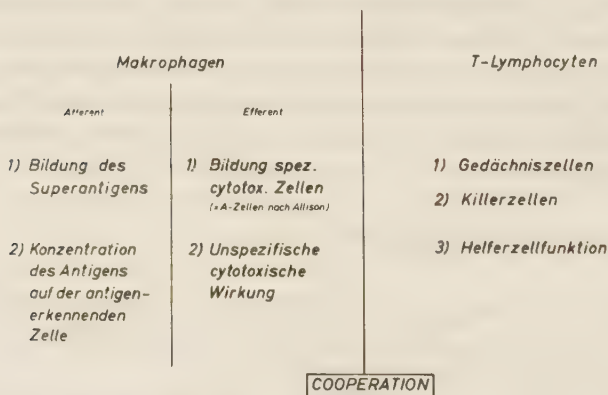
Theorie über das Zusammenwirken von Lymphocyten und Makrophagen:

Aus zahlreichen Untersuchungen weiß man, daß im Körper zumindest zwei Arten Lymphocyten vorhanden sind, die T-Lymphocyten und die B-Lymphocyten (76,81,117). Die T-Lymphocyten vermitteln zelluläre Immunphänomene, wie sie z.B. bei

der Zerstörung von Zelltransplantationen vorkommen (21); die B-Lymphocyten sind für die humoralen Vorgänge verantwortlich d.h. die Antikörperbildung.

T- und B-Zellkooperationen werden diskutiert, wobei der genaue Mechanismus noch aufgeklärt werden muß (77). Die Makrophagen kooperierten mit den Lymphocyten, speziell mit den T-Lymphocyten (8,11,45).

Die Aufgabe von Makrophagen und T-Lymphocyten in der Immunreaktion



Makrophagen helfen den T-Lymphocyten bei der Erkennung des Antigens

Abb. 31: Aufgabe von Makrophagen und T-Lymphocyten in der Immunreaktion.

Sie können die Immunantwort dadurch steigern, daß sie den antigenerkennenden T-Zellen das Antigen in Form des sogenannten Superantigens präsentieren. Darunter versteht man einen Komplex aus von Makrophagen gebildeter RNS und Antigen (40).

Diese Theorie, die von Fishman und Adler aufgezeigt wurde (39) war vorübergehend abgelehnt worden, wurde aber in neuerer Zeit wieder vertreten (3).

Nach Untersuchungen von Feldmann und Basten (34,35,36,37) sind Makrophagen in der Lage, Antigene auf der Oberfläche von immunkompetenten Zellen zu konzentrieren und damit die Antigenerkennung zu erleichtern. Eine eigenständige Funktion in der Immunantwort sollen die Makrophagen nach neueren Vorstellungen von Pearlman und Allison durch die Ausbildung spezifischer cytotoxischer Killerzellen entwickeln (2,86,87).

Ferner wird eine unspezifische cytotoxische Wirkung diskutiert. Man nahm an, daß bei Behandlung mit AMS die Antigenpräsentation ausgeschaltet oder zumindest stark reduziert werden könnte und durch die Therapie mit ALG die Lymphocyten als Effektorzellen stark reduziert würden. Diese beiden immunsuppressiven Effekte könnten sich dadurch additiver, vielleicht sogar in potenziierter Weise verstärken. Vorher soll jedoch noch einmal auf die Theorie über die Wirkungsweisen der einzelnen Antiseren eingegangen werden.

ALG-Wirkungsweise:

Die Hypothesen der ALG-Wirkung lassen sich in 4 Gruppen einteilen (57,67,107,110,112).

1. Die ALG-Wirkung ist ein unspezifischer Serumeffekt (alte Theorie).
2. Mehrere Theorien, die gemeinsam die selektive Wirkung von ALG auf die Lymphocyten bzw. Lymphocytenpopulationen verantwortlich machen. Diese Theorien überschneiden sich teilweise:
 - a) Die Maskierungstheorie (69)
(ALS verhindert die Erkennung des Antigens durch Umhüllung der Lymphocyten).
 - b) Die lymphocytotoxische Theorie (69)
(Generalisierte Sterilisation der Lymphocytenaktivität;

auf Blastenformation und Zellteilung folgt keine spezifische Immunantwort; ALS bewirkt eine Lymphocytolyse oder eine Erschöpfung der Lymphocyten).

- c) Die Theorie des kompetitiven Antigens (49)
(Wechselwirkung zwischen den Antikörpern, die gegen Lymphocyten und gegen zirkulierende Antigene gerichtet sind).
- d) Die Theorie der Transformation der Lymphocyten zu Blastenzellen (70)
(ALS kann alle Lymphocytenumwandlungsstufen beeinflussen. Die Transferreaktionen werden hauptsächlich durch Präsentation der Empfängerlymphocyten gegen das Transplantationsantigen aktiviert).

- 3. Neutralisation eines thymusabhängigen humoralen Faktors
- 4. Teilweise Beeinflussung durch Makrophagen (neue Theorie) (85)

AMS-Wirkungsweise:

Auch die Rolle der Makrophagen bei der akuten, zellulären Abstoßungsreaktion ist bis heute noch nicht gesichert. Es gibt jedoch Hinweise, daß sie am Abstoßungsgeschehen beteiligt sind (8,43,44,78,84,86).

Es wurden folgende Eigenschaften der heterologen Antimakrophagenserum beschrieben (52):

- 1. Agglutination von Makrophagen (73)
- 2. Änderung der Makrophagenkernformation
- 3. Zerstörung von Makrophagen (73)
- 4. Verhinderung der Phagocytose (55)
- 5. Hemmung der Antikörperproduktionen (63)
- 6. Verlängerung der Überlebenszeit von Haut- und Nierentransplantaten (63,107)

Bei Monotherapie sprechen folgende Untersuchungsergebnisse für eine unterschiedliche Wirkungsweise von ALG und AMS:

Nach Applikation von AMS sanken die peripheren Leukocytenwerte nach 1 h auf 60 % des Ausgangswertes. Etwa 3 h später normalisierte sich die Leukocytenzahl. ALG verursachte einen wesentlich stärkeren Leukocytenabfall. Nach 1 h waren Werte von 20 % erreicht, danach erfolgte ein langsamer Anstieg, so daß 3 h später erst 35 % des Ausgangswertes wieder erreicht waren. Bei den Leukocytenzahlen zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen ALG und AMS nach erstmaliger Injektion.

Die Lymphocyten stiegen nach AMS-Therapie leicht an. Werte von 120. % -bezogen auf den Ausgangswert- wurden 6 h post injectionem erreicht.

Nach Verabreichung von ALG sanken die peripheren Lymphocyten auf fast 0 % 1 h post inj. ab. Nur langsam stiegen die Lymphocyten wieder an. So erreichten sie 6 h später erst 20 % des Ausgangswertes.

Auffällig waren auch die histologischen Präparate. Nach reiner AMS-Therapie konnte man immer Lymphocyten oder lymphoblastenartige Zellen nachweisen. Bei ALG-Therapie fehlten diese Zellen (60).

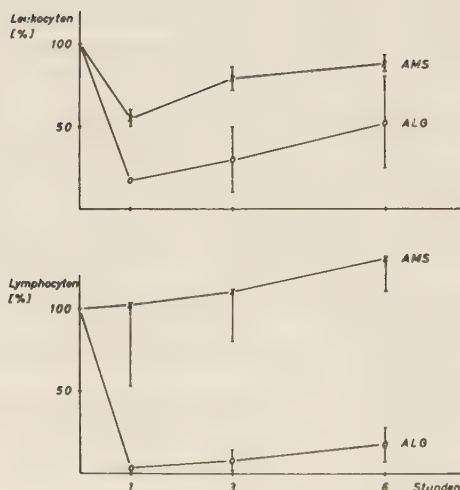


Abb. 30: Verhalten der Leukocyten und Lymphocyten nach einmaliger Injektion von AMS bzw. ALG. Ausgangswert = 100 % (107). Die unterschiedlichen Werte deuten auf verschiedene Wirkungsweisen der Antiseren hin.

Unter ALG-Monotherapie trat eine starke Lymphopenie in Verbindung mit einer erheblichen Leukopenie auf (Abb. 30). Untersuchungen mit der gleichen Charge ALG in Langzeitversuchen zeigten sogar eine dauerhafte Lymphopenie, die bei 20 % des Ausgangswertes lag (123).

Bei Kombinationstherapie mit ALG und AMS wurde überraschenderweise keine Lymphopenie des gewohnten Ausmaßes gefunden. Die Lymphocyten sanken nur auf ungefähr 60 % des Ausgangs-

wertes. Der Grund für dieses Verhalten vom Tag der Transplantation an waren wahrscheinlich der Operationsstreß, die häufigeren Untersuchungen und Infektionen. Auch die Operationsbelastung war größer, da die Tiere beidseitig nephrektomiert wurden, während man bei früheren Versuchen im System Fuchs-Hund nur die Ureteren der Empfängertiere unterband (107).

Bei Beurteilung der Leukocyten sei noch bemerkt, daß nach Untersuchungen von Abel und Schneider (1) und von Weiße e.a. (118) unbehandelte Beagles relativ große Streubreiten bei den peripheren Lymphocytenzahlen aufweisen.

4.4.2 Bildung von Antikörpern

Die verwendeten Empfängertiere der Rasse Beagle hatten präformierten natürlichen Antikörper (PNAK) (Abb. 32) gegen Pferdeproteine und Pferdeerythrocyten.

ALG und AMS, das durch Immunisierung von Pferden gewonnen wurde, stellt reines Pferdeprotein dar und muß als Antigen wirken. Die Hämagglutinationstiter stiegen deutlich, wie Abb. 32 zeigt, fünf Tage nach Therapiebeginn, da von Tag -3 therapiert wurde, bis Tag 2 post op. an. Ab Tag 6 war bei der Versuchsreihe mit Kombinationstherapie die maximale Titerstufe von 10 erreicht, die bis zum Tode gehalten wurde. Auffallend war, daß der Titer der PNAK zunächst unter der Therapie abfiel.

Es gibt in der Literatur Hinweise, daß ALG auch in Anwesenheit von Antikörpern gegen sich selbst wirksam wäre (97). Andere Untersuchungen unterstützen die Annahme, daß die Antikörper gegen Fremdprotein die Wirksamkeit von ALG und AMS wesentlich herabsetzen (4,17,105,123).

ALG und AMS waren, wie Abb. 32 veranschaulicht, wesentlich stärkere Antigene als normales Pferde-Gamma-Globulin (PIgG). Diese starke Antigenizität war bei ALG in Rattenversuchen schon aufgezeigt worden (28,49).

PIgG brachte keine Verlängerung der Transplantatsüberlebens-

zeit, da es weder lymphopenisch noch immunsuppressiv wirkte. Vergleichbar war PIgG nur mit ALG, da es sich in beiden Fällen um die Gammafraktion des Pferdeproteins handelte. Die Kontrollgruppe schloß in erster Linie einen antigenen Wettbewerb zwischen Pferdeglobulin und Fuchsnierenproteinen aus.

Der begrenzte Einfluß auf die Transplantatüberlebenszeit war wahrscheinlich durch die Antikörperproduktion gegen Pferdeprotein bedingt. Deshalb war eine Addierung bzw. Potenzierung der Wirkungen von ALG und AMS nur anfangs möglich geworden. Die Überlebenszeit der Versuchstiere konnte deshalb nicht signifikant über die Überlebenszeiten bei reiner ALG- bzw. AMS-Therapie hinaus verlängert werden. Zur Umgehung dieses Prozesses bieten sich folgende Möglichkeiten:

1. Durch Wechsel auf andere Tierspezies zur Gewinnung von Antiseren hätte man ein breiteres Spektrum von nicht kreuzreagierenden Antilymphocytenglobulinen und Antimakrophagenseren zur Verfügung und könnte jederzeit bei Sensibilisierung auf ein anderes Immunsuppressivum mit voller Aktivität ausweichen.
2. Die Induktion einer partiellen Toleranz (56,98) gegen das zugeführte Antiserum - eine Methode, die von Land und Seifert bei Monotherapie aufgezeigt wurde (64,65). Dieser Mechanismus einer "Toleranzinduktion", um eine längere Wirksamkeit von ALG zu erreichen, scheint vielversprechend (26,103).

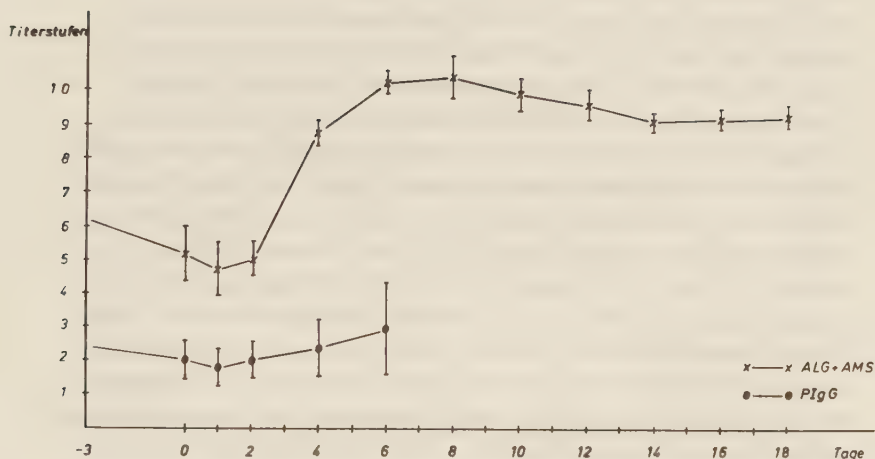


Abb. 32: Hämagglutination gegen Pferdeerythrocyten bei Beagles nach Fuchsnierentransplantation.

4.4.3 Die Rolle des Komplements

Von weiterem Interesse waren die Ergebnisse des aktiven Komplements, eines wichtigen Indikators für die humorale Immunreaktion. Neuerdings wird ihm ein gewisser Einfluß bei zellulären Reaktionen zugeschrieben (7,12,27). Die Antigen-Antikörperreaktion ist nicht fähig, eine Zelle zu zerstören oder die Zellmembrane aufzulösen. Die Cytolyse setzt erst durch die Aktivierung eines humoralen Systems, des Komplements ein, das selbst aus 9 Faktoren besteht. Das Kom-

plement wird bei der Ag-Ak-Reaktion verbraucht. Bei Abstoßung allogener Organe traten hier nur schwache Reaktionen auf und eine Frühdiagnostik war so nicht möglich (41,71,122). Im entfernt verwandten xenogenen System von Tierspezies dagegen wird Komplement in unerwartet hohem Maße aktiviert und damit eine hyperakute Abstoßung eingeleitet. Die Untersuchungen wurden im System Schwein-Hund und Schaf-Hund durchgeführt (50). Die Versuchsreihe mit Kombinationstherapie zeigte schon vor der Transplantation unter der Therapie einen leichten Komplementabfall, der jedoch im Fehlerbereich lag. Nach anfänglichem Anstieg normalisierte sich der Komplementwert und blieb bis zum Versuchsende bei 80 % des Ausgangswertes. Abweichend verhielt sich die Kontrollgruppe mit der PlgG-Behandlung. Bei dieser Versuchsreihe stieg die Komplementaktivität kurz vor Tag 10 auf mehr als 200 % des Ausgangswertes an (Abb. 33). Nach der Schädigung des Transplantates durch die Abstoßungsreaktion wurde entweder mehr Komplement aktiviert oder von dem laufend-eventuell durch überschießende Produktion- bereitgestellten weniger verbraucht, so daß der in vitro gemessene Wert wieder ansteigen konnte.

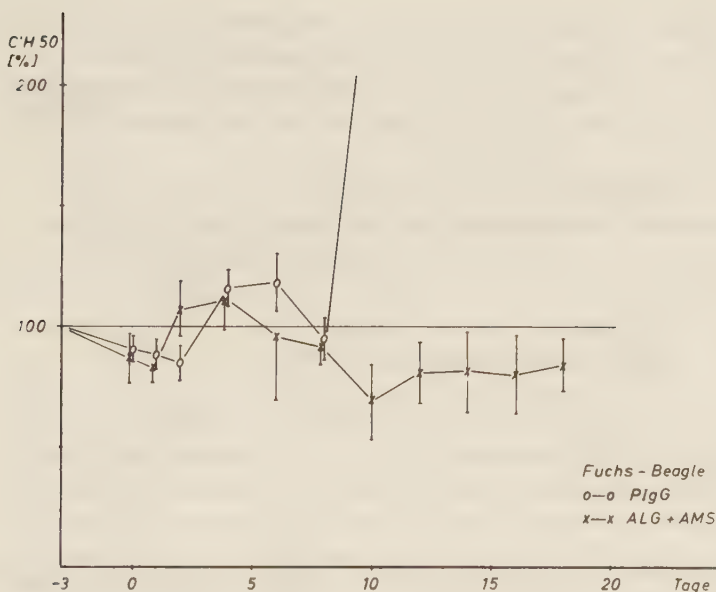


Abb. 33: Verhalten der hämolytischen Aktivität des Komplements (C'H 50) bei Beagles nach Fuchsnierentransplantation. Gruppe 4 (Behandlung mit PlgG) und Gruppe 5 (Immunsuppression mit ALG und AMS).

4.4.4 Histologische Untersuchung

Im histologischen Präparat waren die zellulären Reaktionen, wie sie bei den Kontrollen der Gruppe 4 auftraten, gut zu erkennen, wogegen auf die humoralen Schädigungen meist nur aus den Nekrosen zu schließen war.

Mit der immunsuppressiven Therapie zeigte sich, daß es möglich war, die zelluläre Abstoßungsreaktion zu verzögern. Die humorale Reaktion, die langsam einsetzte, war nicht zu beeinflussen. Immunhistologische Fluoreszenzuntersuchungen mit Anti-IgG ergaben keine Aufschlüsse über die Anwesenheit von PNAK. Allerdings besteht die Möglichkeit, daß es sich hier um

IgM handeln könnte, für das kein Antiglobulin zur Verfügung stand. Bei menschlichen Nieren zeigen 76 % der Patienten unter immunsuppressiver Therapie nach Nierentransplantation subendothelial Globuline der M-Fraktion (5,16, 95,120).

In der Literatur sind Fälle beschrieben, bei denen die Fluoreszenzuntersuchungen und die klinischen Bilder der Abstoßung nicht in Korrelation gebracht werden konnten (100).

4.4.5 Funktionsbestimmung der Nieren

Einen wichtigen Faktor für die Transplantatkontrolle bildet der Serumkreatininspiegel (Abb. 34). Es zeigte sich, daß unter Kombinationstherapie Kreatinin in Vergleich zu den restlichen Werten wie bei Gruppe 5 (ALG und AMS-Therapie) bis Tag 10 post op. keinen Anstieg aufwies. Die ca. an Tag 11 post op. einsetzende Abstoßung führte um Tag 18 zum Tod der Versuchstiere.

Die Kombinationstherapie hatte, gemessen am Serumkreatininspiegel, einen günstigeren Verlauf als die Monotherapie mit ALG oder AMS.

Es zeigte sich auch, daß die Sequenzszintigraphie als Routinemethode sehr erfolgversprechend ist. Meist ließen sich Verschlechterungen der Nierenfunktion 1-2 Tage vor dem Kreatininanstieg feststellen. Neben dieser Genauigkeit der Funktionsbestimmung handelt es sich um eine schmerzlose Untersuchung, die für den Patienten auch keine hohe Strahlenbelastung darstellt.

Diese Untersuchungsmethode ermöglicht äußerst rasches Eingreifen bei den geringsten Anzeichen einer Transplantatabstoßung. Durch die frühzeitige Diagnostik kann man Abstoßungskrisen rechtzeitig abfangen. Momentan stellt sie die genaueste und diagnostisch empfindlichste Methode dar und besitzt deshalb eine große Tragweite bei der Transplantation von Nieren.

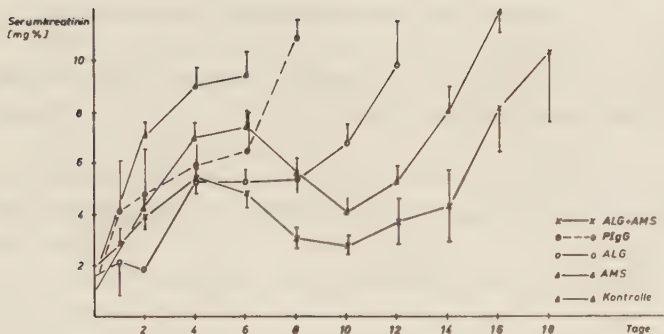


Abb. 34: Serumkreatininwerte bei Beagles nach Fuchsnieren-transplantation.

4.5 Diskussion der Nierentransplantation in den Systemen Dingo-Beagle und Wolf-Schäferhundbastard.

Die genetischen Merkmale sprachen beim System Dingo-Beagle für die Einführung des Begriffes semi-xenogenes System. Während der langen Isolierung entwickelten sich Dingos zu einer eigenständigen Rasse, doch sind sie von den anderen Hunden physiologisch nicht zu unterscheiden. Die Transplantationsergebnisse entsprechen vollkommen denen im allogenen System.

Zwischen den Ergebnissen der Lymphocytenantigene und der Überlebenszeit zeigte sich hier in einem Fall eine gute Korrelation, die in Analogie zu Untersuchungen von Westbroeck (119) in allogenen Versuchsmodellen angenommen werden kann.

Es lag ein B-Match vor, d.h. 3 DL-A-Spezifitäten stimmten überein. Das Versuchstier hatte mit 17 Tagen die längste Überlebenszeit der Versuchsreihe. Der histologische Schnitt der Niere zeigte nach dieser Zeit noch keine Zeichen der Abstoßung. Die Todesursache war wahrscheinlich eine eitrige Bronchopneumonie.

Obwohl der Wolf und der Hund im zoologischen Sinne und in einigen genetischen Markern Unterschiede haben, überlebten die Versuchshunde nach Transplantation von Wolfsnieren signifikant länger als Versuchshunde nach allogener Nierentransplantation. Da nur ein Wolf zur Verfügung stand, wurde ein Empfängertier mit der beschriebenen Kombinationstherapie (ALG und AMS) behandelt, während der andere Schäferhundbastard keine Immunsuppression erhielt. Der behandelte Hund (Cortison, ALG und AMS) starb nach 28 Tagen an einer massiven Bronchopneumonie. Alle Zeichen der Abstoßung waren, wie auch histologisch bestätigt, erfolgreich unterdrückt. Es besteht nun die Frage, ob das Versuchstier WH an den Folgen der Immunsuppression starb oder ob auch Faktoren wie z.B. Infektionen und Bluttransfusionen eine wesentliche Rolle spielten.

Beim nicht therapierten Versuchstier lautete das histologische Untersuchungsergebnis an Tag 31: Schwere akute Abstoßung. Eine Ursache für diese extremen Überlebenszeiten, die inzwischen durch fortführende Versuche bestätigt wurden ($n = 5$) (23,54), ist noch unbekannt. Die Funktionswerte nach Transplantation entsprachen den präoperativen Meßwerten. Die einzigen Änderungen waren eine Leukocytose und eine Hyperkomplementämie. Diese Hyperkomplementämie trat sowohl bei den Empfängern von Dingonieren als auch bei den Empfängern von Wolfsnieren auf (Abb. 35).

Eine Erklärung für diesen starken Anstieg, wie er ähnlich bei der Kontrolle im System Fuchs-Beagle unter PlgG-Therapie auftrat, gibt es im Augenblick nicht. Auch hier bestünde

die Möglichkeit, daß nach Abstoßung eine überschießende Komplementproduktion auftritt, während andererseits nach vollendeter Abstoßung weniger verbraucht wird.

Diese Ergebnisse sind vorläufig nur so zu erklären, daß Schäferhundbastarde auf Grund der geringen Antigenunterschiede zwischen Wolf und Hund eine Art Enhancement entwickeln, d.h. die Wirkung der protektiven "blocking" Antikörper verhindert die cytotoxische Wirkung der Antikörper

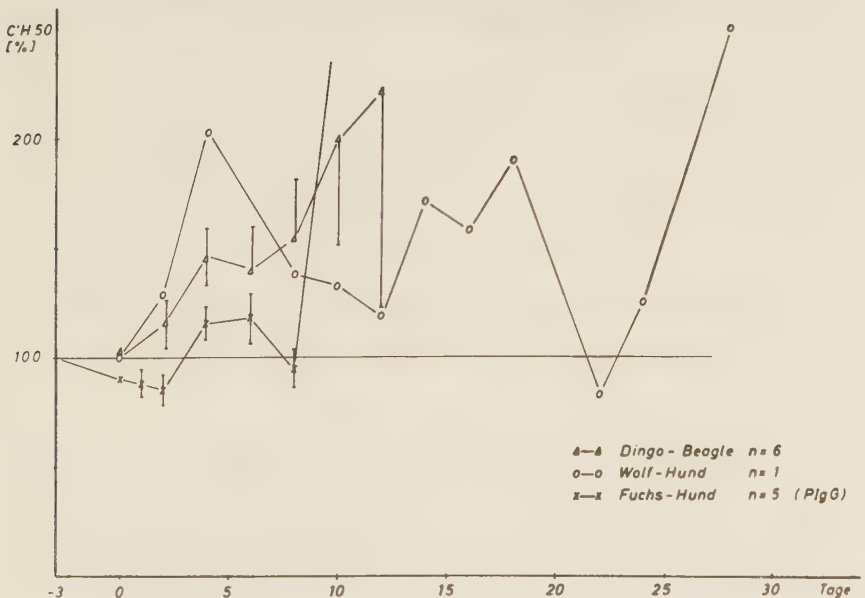


Abb. 35: Darstellung der hämolytischen Aktivität des Komplements (C'H 50) bei Hunden nach Nierentransplantation. Zum Vergleich sind die Systeme Dingo-Beagle, Wolf-Hund ohne Immunsuppression und Fuchs-Beagle dargestellt.

an Nierenendothelzellen und verlängert damit die Transplantatüberlebenszeit.

Dieses Transplantationsergebnis im semixenogenen System gibt zu der Hoffnung Anlaß, daß auch in der Primatenreihe ähnlich günstige Kombinationen gefunden werden können. Es handelt sich, wie fortführende Versuche im System Wolf-Hund zeigten, nicht um eine Ausnahme, da die langen Transplantatüberlebenszeiten reproduzierbar waren (54). Dies Versuchsmodell zeigt, daß eine Organtransplantation nicht nur im allogenen, sondern auch im semixenogenen System mit gutem Erfolg durchgeführt werden kann. Es bleibt noch auszutesten, ob Schimpansenkreuzungen oder unbekannte Affengattungen ähnliche für den Menschen lebensrettende Einsatzmöglichkeiten bieten.

5 Zusammenfassung =====

- 5.1 Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, das Verhalten von Organtransplantaten in zoologisch eng verwandten Spender-Empfängerkombinationen zu untersuchen. Gewählt wurden Spezies aus der zoologischen Familie der Caniden, wobei der Hund immer als Empfänger, Dingo, Wolf und Fuchs als Spender dienten. Haut- und Nierentransplantate wurden mit und ohne Immunsuppression getestet.
- 5.2 Die Ergebnisse der Hauttransplantationen ohne Immunsuppression waren:
 - 5.2.1 Im System Fuchs-Hund eine Transplantatüberlebenszeit von $5,3 \pm 0,7$ Tagen ($n=10$).
 - 5.2.2 Im System Dingo-Hund eine Transplantatüberlebenszeit von $10,6 \pm 2,9$ Tagen ($n=9$).
 - 5.2.3 Im System Wolf-Hund eine Transplantatüberlebenszeit von $12,7 \pm 2,8$ Tagen ($n=9$).
- 5.3 Die Ergebnisse der Nierentransplantationen waren:
 - 5.3.1 Im System Fuchs-Beagle unter Therapie von PIgG lag eine Überlebenszeit von $7,8 \pm 0,74$ Tagen ($n=5$) vor. Diese Gruppe galt als Kontrollgruppe. (Zum Vergleich: Unbehandelte Versuchshunde nach Fuchsnierentransplantation hatten eine Überlebenszeit von $6,5 \pm 0,4$ Tagen (25)).

- 5.3.2 Die Überlebenszeit der Versuchshunde, mit Fuchsnieren transplantiert und mit ALG und AMS therapiert, betrug $17,7 \pm 0,87$ Tage.
- 5.3.3 Bei Nierentransplantationen im System Dingo-Beagle ohne immunsuppressive Behandlung wurde eine Überlebenszeit von $11,5 \pm 1,23$ Tagen ($n=6$) erreicht.
- 5.3.4 Im System Wolf-Schäferhundbastard überlebte das Versuchstier (KWH) ohne immunsuppressive Behandlung 31 Tage, der Versuchshund (WH) mit ALG-, AMS- und Cortisontherapie 28 Tage.
- 5.4 Nach den begleitenden immunologischen und genetischen Untersuchungen müssen Organe vom Dingo als allogene, vom Wolf als "semi-xenogene" und nur Organe des Fuchses als echte xenogene Transplantate aufgefaßt werden. In allen drei Empfänger-Spender-Kombinationen liegen hauptsächlich zelluläre Immunmechanismen vor. Mit Antilymphocyten- bzw. Antimakrophagenserum konnte in allen Kombinationen die Transplantatüberlebenszeit wesentlich verlängert werden.
- 5.5 Besonders lange Überlebenszeiten - mit und ohne Immunsuppression - wurden mit Transplantaten vom Wolf erzielt. Dies läßt die Hoffnung zu, daß auch für den Menschen xenogene oder semi-xenogene Spender (unter den Primaten) gefunden werden können, die den klinischen Einsatz rechtfertigen.

6 Literaturnachweis
=====

- (1) ABEL und SCHNEIDER
Versuchstierkunde Bd. 15
Tabelle 2 und 3 Blutmeßwerte für
Beagles
- (2) ALLISON A. C., DAVIS A. J. S.
Requirement of thymus-dependent lympho-
cytes for potentiation by adjuvants of
antibody formation.
Nature Lond., 233, 330, 1971
- (3) ANDERSON N. F., JAMES K., WOODRUFF M. F. A.
The effect of anti-lymphocytic antibody
and antibody fragments on skin homograft
survival and the blood-lymphocyte count
in rats.
The Lancet I, 1126, 1967
- (4) ANDERSON R. E., SPRENT J., MILLER J. F. A. P.
Cell-to-cell interaction in the immune
response.
VIII. Radiosensitivity of thymus-derived
lymphocytes.
J. exp. Med., 135, 711, 1972
- (5) ANDRES G. A., ACCINNI L., HSN K. C., PENN J.,
PORTER K. A., RENDALL J. M., SEEGAL B. C. and
STARZL T. E.
Human renal Transplants.
III. Immunopathologic studies.
Lab. Invest. 22, 588, 1970

- (6) AVRAMOVICI A.
Les transplantations de rein.
Lyon Chir. 21, 734, 1924
- (7) BALCH CH., DIETHELM A. G.
Renal allograft Rejection.
Journal of surgical Research
Vo. 12,5, 1972
- (8) BALCH C. M., DIETHELM A. G.
Current research review.
Journal of surgical Research 12, 350,
1972
- (9) BALNER H., V. LEEUWEN A., VAN VREESWIJK,
DERSJANT H. and VAN ROOD J. J.
Leukocyte Antigens of Chimpanzees and
their relation to human HL-A-Antigens.
Transpl. Proc. 2, 454, 1970
- (10) BALNER H.
Vortrag am Inst. für Chir. Forschung
am 20.6.74
- (11) BARNET K., PEKAREK J., JOHANOVSKY J.
Evaluation of the antimacrophage effect
of Antilymphocyte-, Antimacrophage- and
Anti IgG-Sera by a new in vitro test.
Transplant. Vol. 13, 1, 1972
- (12) BECKER E. L.
The relation of complement to other
systems.
Proc. Roy. Soc., 173, 1969

- (13) BEN-HUR N., SOLOWEY A. C., RAPAPORT F. T.
The xenograft rejection phenomenon
1. Response of the mouse to rabbit,
guinea pig and rat skin xenografts.
Israel J. Med. Sci. 5, 1, 1969
- (14) BOYLAN J. W., DEETJEN P., KRAMER K.
Niere und Wasserhaushalt
Urban- und Schwarzenberg-Verlag
München-Berlin-Wien 1970
- (15) BRANDIS HENNING
Einführung in die Immunologie.
Niederl. Gesellschaft für Immunologie
G. Fischer-Verlag Stuttgart 1972
- (16) BUSCH G. I., CALVANEK E. G. and REYNOLDS E.
S. Human renal allografts Analysis of
lesions in long-term survivors.
Hum. Path. 2, 253, 1971
- (17) BUTLER W. T., ROSSEN R. D.
Increasing effectiveness of antilym-
phocytic globulin by prevention of anti-
body formation to horse IgG.
Transplant. Proc. 3, 733, 1971
- (18) CALNE R. Y.
Renal Transplantation
Baltimore: Williams & Wilkins 1963
- (19) CALNE R. Y., WHITE H. J. C., Herbertson B. M.,
MILLARD P. R., DAVIS O. R., SALAMAN J. R.,
SAMUEL J. R.
Pig to baboon liver xenografts.
Lancet I, 1176, 1968

- (20) CARREL A.

La technique opératoire des anastomoses vasculaires et la transplantation de viscères.

Lyon méd. 98, 859, 1902

- (21) CEROTTINI J. C., NORDIN A. A., BRUNNER K. T.

Specific in vitro cytotoxicity of Thymus-derived Lymphocytes sensitized to Allo-antigens.

Nature Lond. 228, 1308, 1970

- (22) CHAUSSY CH., HAMMER C., V. SCHEEL J., EISENBERGER F.,
PFEIFER K. J., ROTHE R., LAND W., PIELSTICKER K.,
BRENDDEL W.

Immunsuppressiver Effekt eines AMS bei xenogener Nierentransplantation
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir.
Forum 1973

- (23) CHAUSSY CH., HAMMER C., SOLLINGER H. W., V. SCHEEL J.,
ROSCHER E., PONGRATZ H.

Latest results in xenogenic Organtransplantation. Abstract 6th round table Symposium on applied immunology.
Kitzbühel, Jan. 1975

- (24) CHAUSSY CH., HAMMER C., PONGRATZ H., V. SCHEEL J.,
PFEIFER K. J., LAND W., SOLLINGER H., PIELSTICKER K.
BRENDDEL W.

Prolongation of graft survival in rats and dogs by a specific antimacrophage serum (AMS)
Transplant proc. 1, 779, 1975

- (25) CHAUSSY CH., HAMMER C., V. SCHEEL J.,
PIELSTICKER K., SOLLINGER H. W., PFEIFER K. J.,
PONGRATZ H. and BRENDEN W.
Xenogenic Skin- and Kidney Transplants
in a closely related Canine-System,
Fox-Dog.
Transplant 1975, in press Sept. 1975
- (26) CHAUSSY CH., HAMMER C., RING J., SOLLINGER H. W.
ROSCHER E., PIELSTICKER K., PFEIFER K. J.,
PONGRATZ H., BRENDEN W.
Verbesserte ALG-Therapie durch Vorbe-
handlung mit IgG bei xenogener Nieren-
transplantation.
im Druck ESR
- (27) COCHRANE C. G.
The role of immune complexes and com-
plement to other systems.
Proc. Roy. soc. 173, 1969
- (28) CURREY H. L. F., ZIFF M. P.
Suppression of experimentally induced
polyarthritis in the rat by heterologous
antilymphocyte serum.
The Lancet II, 889, 1966
- (29) DEMPSTER W. J.
Kidney Homotransplantation.
Brit. J. Surg. 40, 447, 1953
- (30) EGDAHL R. H., GOOD R. A., VARCO R. L.
Studies in homograft and heterograft
survival.
Surgery 42, 228, 1957

- (31) EIGLER J.
Nuklearmed. Funktionsdiagnostik
in der klinischen Nephrologie.
Internist 10, 346, 1969
- (32) EMRICH D.
Nuklearmed. Funktionsdiagnostik
G.-Thieme-Verlag, Stuttgart, 1971
- (33) FEINE U., ZUM WINKEL K.
Nuklearmed. Szintigraphische Diagnostik
G.-Thieme-Verlag, Stuttgart 1969
- (34) FELDMANN J. D.
Graft rejection
Arch. Intern. Med. 123, 713, 1969
- (35) FELDMANN M., BASTEN A. .
Specific Collaboration between T and B
Lymphocytes across a cell-impermeable
membrane in vitro.
Nature new Biol., 13, 237, 1972
- (36) FELDMANN M., BASTEN A.
Cell interactions in the immune response
in vitro.
I. Metabolic activities of T cells in
a collaborative antibody response.
Europ. J. Immunol. 2, 213, 1972
- (37) FELDMANN M., CONE R. E., MARCHALONIS J. J.
Cell interactions in the immune response
in vitro.
VI. Mediation by T cell surface monomeric
IgM.
Immunol. in press

- (38) FISHMAN M.,
Antibody formation in vitro.
J. exp. Med. 114, 837, 1961
- (39) FISHMAN M., ADLER F. L.
Antibody formation initiated in vitro.
J. exp. Med. 117, 595, 1963
- (40) FISHMAN M., ADLER F. L.
The role of macrophage RNA in the
immune response.
Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol 32,
343, 1967
- (41) FOKER J. E., CLAR D. S., PICKERING R. J.
GOOD R. A. and VARCO R. L.
Studies and the mechanism of canine-
renal allograft rejection.
Transplant. Proc. 1, 296, 1969
- (42) FOX M. W.
The Wild Canids.
van Nostrand Reinhold Company, New-York/
Cincinnati/Toronto/London/Melbourne, 1975
- (43) GILLETTE R. W., Lange E. M.
Kinetic studies of macrophages.
Transpl. 11, 94, 1971
- (44) GRANGER G. A., WEISER R. S.
Homograft target cells: Contact destruc-
tion in vitro by immune macrophages.
Science 151, 97, 1966

- (45) GREAVES M. F., OWEN J. J. T., RAFF M. C.
T and B Lymphocytes
Excerpta Med. Amsterdam 1973
Amer. Elsevier Publ. Co., Inc. New York
- (46) GURLAND H. J., BRUNNER F. P., VON DEHN H.,
HÄRLEN H., PARSON F. M., SCHÄRER K.
Combined report on regular dialysis
and transplant in Europe, IV, 1973
Proceed. of the Europ. dialysis and
associat.
Vol. 11, 2, 1974
- (47) GUSTAVSSON J.
The chromosomes of the dog.
Hereditas 51, 187, 1964
- (48) GUSTAVSSON J.
Karyotype of the fox.
Nature 201, 950, 1964
- (49) GUTTMAN R. P., CARPENTER C. B., LINDQUIST R. R.
MERRILL J. P.
Renal transplantation in the inbred rat.
III A study of heterologous antithymocyte
sera
J. exp. Med. 126, 1099, 1967
- (50) HAMMER C.
Inaugural-Dissertation
München 1972
- (51) HAMMER C., CHAUSSY CH., KREBS G., FIEDLER H.,
PONGRATZ H., BRENDDEL W.
A new concept for classification of
xenograft rejection.
2nd Joint Meeting Garmisch-Partenkirchen '73
Europ. Surg. Res. 5, 19, 1973

- (52) HAMMER C., CHAUSSY CH.
Experimentelle Grundlagen der xenogenen
Organtransplantation.
Langenbeckspreis 1974
- (53) HAMMER C.
Habilitationsschrift 1975
- (54) HAMMER C., CHAUSSY CH., V. SCHELL J., PONGRATZ H.,
ROSCHER E., BRENDEN W.
Survival time of skin and kidney grafts
within different canine species in re-
lation to their genetic markers.
Transplant Proc., 1975 in press
- (55) HIRSCH M. S., GARY G. W., MURPHY F. A.
In vitro and in vivo properties of anti-
macrophages sera.
J. Immunol. 102, 656, 1966
- (56) HOPF U.
Immunologische Toleranz
Klin. Wschr. 49, 177, 1971
- (57) HUMPHREY J. H., WHITE R. G.
Kurzes Lehrbuch der Immunologie
G.-Thieme-Verlag Stuttgart 1972
- (58) JABOULAY M.
Greffe de reins au pli du coude par soudures
arterielles et veineuses.
Lyon med. 107, 575, 1906
- (59) KABAT E. A., MAYER M.
Complement and complement fixation.
Exp. Immunochemistry
2. Ed., Ch. Th. Springfield III, 1961

- (60) KISSMEYER-NIELEN F., OLSON S., PETERSON V.P.,
FJELDBORG O.
Hyperacute rejection of kidney allografts,
associated with preexisting antibodies
against donor cells.
Lancet 2, 662, 1966
- (61) KRANZFELDER D. K.
Inaugural Dissertation
München 1973
- (62) KRUEGER R. P., SANDERS A. P., DE MARIA W.,
BAYLIN G. J.
Analysis of the radio-renogram curve.
Amer. J. Roentgenol. 86, 819, 1961
- (63) LAND W., GRABS G., BRENDEL W.
Immunosuppressive effects of antimacro-
phages antibodies in rats.
Europ. Surg. Res. 1, 211, 1969
- (64) LAND W., BRENDEL W., HOPF U., SEIFERT J.
Versuch zur Induktion einer immunologi-
schen Toleranz gegen Pferde IgG am
Menschen.
Klin. Wschr. 48, 241, 1970
- (65) LAND W., SEIFERT J., HOPF U., FATEH-MOGHADAM A.,
BRENDEL W.
Untersuchungen zur Induktion einer Immun-
toleranz gegen Pferde-Gammaglobulin beim
erwachsenen Hund.
Zeitschrift für Immun.-Forsch. Band 141,
94, 1970

- (66) LAND W.
Möglichkeiten und Grenzen der xenogenen
Organtransplantation
Der Chirurg 42, 172, 1971
- (67) LAND W., BRENDDEL W.
Einige Aspekte zur Therapie mit ALG.
Therapie Woche 21, 7, 534, 1971
- (68) IARGIADER F.
Organ Transplantation
G.-Thieme-Verlag Stuttgart 1970
- (69) LEVEY R. H., MEDAWAR P. B.
Nature and mode of action of anti-
lymphocytic serum.
Proc. Acad. Sci. Wash. 56, 1130, 1966
- (70) LEVEY R. H., MEDAWAR P. B.
Further experiments on the action of
antilymphocytic sera.
Proc. Acad. Sci. Wash. 58, 470, 1967
- (71) LEVINE P. H., MERRILL D. A., KOHLER P. F.,
CLAMAN H. N.
Changes in serum immunoglobulin and
complement levels following renal
homotransplantation.
Transplant. 10, 141, 1970
- (72) LIN C. C., JOHNSTON D. H., RAMSDEN R. O.
Polymorphism and quinacrine Fluorescence
Karyotypes of red fox
Can. J. Genet. Cytol. 14, 573, 1972

- (73) LOEWI G., TEMPLE A., NIND A. P. P., AXELRAD M.
A study of the effects of antimacrophage sera.
Immunology 16, 99, 1969
- (74) MARSHMAN A. W. J., VAN DER HART M., VAN LOGHEM J.J.
Antigenic differences between macrophages and lymphocytes.
Clin. exp. Immunol. 6, 899, 1970
- (75) MERCK E.,
Klinisches Labor der medizin.-chem. Untersuchungsmethoden.
E. Merck, Darmstadt, 11. Aufl. 1970
- (76) MILLER J. F. A. P., MITCHEL G. P.
Thymus and antigen reactive cells.
Transplant. Rev. 1, 3, 1969
- (77) MILLER M. F. A. P., BASTEN A., SPRENT J., CHEERS C.
Interaction between lymphocytes in immune reactions.
Cell. Immunol. 2, 469, 1971
- (78) NAJARIAN J. S., FOKER J. E.
Mechanisms of kidney allograft rejection.
Transpl. Proc. 1, 184, 1969
- (79) NAJARIAN J. S., SIMMONS R. L.
Transplantation
Urban- und Schwarzenberg-Verlag
München-Berlin-Wien 1972

- (80) NEUHOF H.
The transplantation of tissues.
New York, Appleton and Co., 260, 1923
- (81) NOSSAL G. J. V., ADA G. L.
Antigens, lymphoid cells and the
immune response.
Academic Press, New York 1971
- (82) OBERHAUSER E., KUNKEL R., EMRANI J., TKOCZ R.
Funktionsuntersuchungen mit teilabge-
schirmten Ganzkörperzählern.
Radioakt. Isotope in Klinik und
Forschung, Bd. 9
- (83) PANGAN J., POPOWITZ L., SOBOCINSKI L.,
MINKOWITZ S., JOSEPHSON A. S., VALENTINI C.,
GLIEDMAN M. L.
A heterograft model for auxiliary liver
transplantation in the dog.
Transactions ASAIO 12, 265, 1966
- (84) PANIJEL J., CAYCUX P.
Immunosuppressive Effects of Macrophage
Antiserum.
Immunology 14, 769, 1968
- (85) PATTERSON J. T., PISANO J. C., DI LUCIO N. R.
Reversal of antilymphocytic seruminduced
immunosuppression by macrophage admini-
stration.
Proc. Soc. Biol. and Med. 135, 831, 1970
- (86) PEARSALL N. N., WEISER R. S.
The macrophage in allograft immunity.
II. Passive transfer with immune macrophages.
J. Reticuloendothel Soc. 5, 121, 1968

- (87) PERLMANN P., PERLMANN H. T., MULLER-EBERHARD H. J.,
MANNI J. A.
Cytotoxic effect of leukocytes triggered
by complement.
Science 163, 937, 1969
- (88) PERPER R. J., NAJARIAN J. S.
Experimental renal heterotransplantation II.
Closely related species.
Transpl. 4, 700, 1966
- (89) PERPER R. J., NAJARIAN J. S.
Experimental renal heterotransplantation I.
In widely divergent species.
Transpl. 4, 377, 1966
- (90) PFEIFER K. J., GRUNDMANN R., LANGHAMMER H.
Nuklearmed. Untersuchungen bei postopera-
tiven Ausscheidungsstörungen von Trans-
plantatnieren.
Fortschr. Röntgenstr. 116/1, 106, 1972
- (91) PFEIFER K. J., ROTHE R., INGRISCH H., EDEL H. H.,
PICHLMAIER H., HEINZE H. G.
Funktionsszintigraphie transplan-
tierter Nieren.
Münchn. Med. Wochenzeitschr. 3, 115, 1973
- (92) PICHLMAYR R.
Herstellung und Wirkung heterologer
Antihundelymphocytenseren.
Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 143, 161, 1967

- (93) PICHLMAYR R., BRENDEN W., WONIGET K.
Blutbildveränderungen nach Gabe eines
heterologen Antihundelymphocytenserums.
Z. ges. exp. Med. exp. Chir. 143, 305, 1967
- (94) PIELSTICKER K.,
Habilitationssarbeit 1973
- (95) PORTER K. A., ANDRES G. A., CALDER M. W.,
DOSSETOR J. B., HSU K. C., RENDALL J. M., SEEAL B. C.
and STARZL T. E.
Human renal transplantants.
II. Immunfluorescent and immunoferritin
studies.
Lab. Invest. 18, 159, 1968
- (96) PRINCETEAU M.
Grefe rénale
Bordeaux J. Med. 26, 549, 1905
- (97) RAJU S., GROGAN J. B.
Heterologous antilymphocyte serum.
Transplant. 8, 695, 1969
- (98) RAPAPORT F. T., WATANOE K., MATSUYAMA M.,
CANNON F. D., MOLLEN N., BLUMENSTOCK D. A.,
FERREBEE J. W.
Induction of Immunological Tolerance
to Allogeneic Tissues in the Canine
Species.
Annals of surg. Vol 176, No. 4, 529, 1972
- (99) REEMTSMA K., CRACKEN, B. H. MC., SCHLEGEL J. U.,
PEARL M. A., PEARCE C. V., DE WITT, C. W., SMITH P. E.
HEWITT R. H., FLINNER R. H., CREECH O.
Renal heterotransplantation in man.
Ann. Surg. 160, 384, 1964

- (100) ROCK R., ROSENAU W., and NAJARIAN J. S.
A clinicopathologic study of human
renal homotransplantation.
Surg. Gynec. Obstet. 125, 289, 1967
- (101) V. RODD J. J., V. LEEUWEN A., ZWEERUS R.
Histokompatibilität
ed. P. I. Terasaki 1970 Munksgaard,
Copenhagen
- (102) ROSENBERG J. C., HAWKINS E., RECTOR F.
Mechanism of immunological injury
during antibody mediated hyperacute
rejection of renal heterografts.
Transpl. 11, 151, 1971
- (103) ROSCHER E.
Inaugural-Dissertation im Druck
- (104) RUBINSTEIN P., MORGADO F., BLUMENSTOCK A.,
FERREBEE J. W.
Isohemagglutinins and histocompati-
bility in the dogs.
Transplantation Vo. 9. 961, 1968
- (105) SIMMONS R. L., MOBERG A. W., GEWURZ H., SOLL R.,
TALLENT M. B., NAJARIAN J. S.
Immunosuppressive assay of antilympho-
blast globulin in man: Effect of dose,
histocompatibility and serologic response
to horse -globulin.
Surgery 68, 62, 1970

- (106) SIMONSEN M., BUEMANN J., GAMMELTOFT A.,
JENSEN F., JORGENSEN K.
Biological incompatibility in kidney
transplantation in dogs.
I. Experimental and morphological
investigation.
Acta path. microbiol. scand. 32, 1, 1953
- (107) V.SCHEEL J.
Inaugural Dissertation - München 1974
- (108) SCHILLING A.
Inaugural Dissertation - München 1972
- (109) STARZL D. E., MARCHIORO T. L., PETERS G. N.,
KIRKPATRICK C. H., WILSON W. E., PORTER K. A.,
RIFKIND O., OGDEN D. A., HITCHCOCK C. R.,
WADDELL W. R.
Renal heterotransplantation from baboon
to man. Experiences with 6 cases.
Transplantation 2, 752, 1964
- (110) STEFFEN C.
Allgemeine und experimentelle Immunolo-
gie und Immunpathologie.
G.-Thieme-Verlag Stuttgart 1968
- (111) TITUS CHOCHOLKA-TUTEWOHL
Inaugural Dissertation im Druck
- (112) UHLENBRUCK G.
Immunbiologie - eine Einführung
"Das. wiss. Taschenbuch",
W.-Goldmann-Verlag München 1971

- (113) ULLMANN E.
Experimentelle Nierentransplantation.
Wien klin. Wochenschr. 15, 281, 1902
- (114) UNGER E.
Nierentransplantationen (2. Mitteilung)
Berliner k. W.schr. 47, 573, 1910
- (115) VRIESENDORP H. H.
The occurrence of dog histocompatibility
antigens in other canidae.
Genen-Phaenen 15, 12, 1972
- (116) VRIESENDORP H. M., WESTBROEK D. L., D'AMARO J.,
VAN DER DOES J. A., VAN DER STEEN G. J., VAN ROOD
J. J., ALBERT E., BERNINI L. e. a.
Joint report of 1st. international work-
shop of canine immunogenetics.
Tissue Antigens 3, 145, 1973
- (117) WARNER N. L., SZENBERG A., BURNET F. M.
The immunological role of different
lymphoid organs in the chicken.
I. Dissociation of immunological responsiv-
ness.
Austral. J. exp. Biol. med. Sci. 40,
373, 1962
- (118) WEISSE I., KNAPPEN F., SCHRANK H., KLUPP H.
Das Blutbild der engl. Beagle-Hunde in Ab-
hängigkeit von Alter und Geschlecht.
Arzneimittelforschung (Drug -Res.)
21, 1703, 1971

- (119) WESTBROECK D. L., VRIESENDORP H. M., SCHÖNHERR-SCHOLTES Y., VAN URK H., SILBERBUSCH J., DE VRIES M.
Renal Allograft Survival in Untreated
DL-A-Identical and Non-Identical
Littermate-Beagles.
6th Congress of the Europ. Soc. for
exp. Surg. Helsingborg, ed. by
S. Bengmark + A. Olsson 1971
- (120) WILLIAMS G. M., LEE H. M., WEYMOUTH R. F., HARLAN W. R.,
HOLDEN K. R., STANLEY C. M., MILLINGTON G. A. and
HUME D. M.
Studies in hyperacute and chronic renal
homograft rejection in man.
Surgery 62, 204, 1967
- (121) ZUM WINKEL K., KLINKE J. D.
Radioisotopenuntersuchungen bei der
Nierentransplantation.
Wiederbelebung-Organersatz-Intensivmedizin.
6, 121, 1969
- (122) WINN H. J.
Humoral antibody in allograft reactions.
Transplant. Proc. 2, 83, 1970
- (123) ZINK R. A.
Inaugural Dissertation - München 1974

7 Anhang
=====

Herrn Professor Dr. med. Dr. h. c. W. Brendel danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Institut für chirurgische Forschung und für seine ständigen Anregungen und Ratschläge im Verlauf der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. med. Dr. med. vet. C. Hammer und Herrn Dr. med. Ch. Chaussy für die Einführung in die immunologischen und chirurgischen Grundlagen der Transplantation und für die Unterstützung bei den Tierversuchen.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. K. Pielsticker danke ich für die Untersuchung und Beurteilung der histologischen und immunhistologischen Präparate.

Herrn Dr. med. Pfeifer und Herrn Dr. med. Schmidt gilt mein Dank für die radiologischen Untersuchungen am Rieder-Institut.

Für die technische Unterstützung und stete Hilfsbereitschaft danke ich besonders Fräulein A. Allmeling, Fräulein G. Brons, Fräulein G. Höbel und Frau Robitzkat sowie Herrn O. Frisch und Herrn E. Rogelmeier.

Lebenslauf:

Am 26. Oktober 1945 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Hans Pongratz und dessen Ehefrau Gertraud, geborene Haberl, in München geboren.

Volksschule:	Von 1951 bis 1956
Oberschule:	Von 1956 bis 1965
Hochschulreife:	Luitpold-Oberrealschule München, Juli 1965
Beginn des Studiums:	Technische Hochschule München im WS 65/66
Studienfach:	Maschinenbau an der Fakultät für Maschinenwesen und Elektrotechnik
Diplomvorprüfung:	Abschluß am 10.4.68
Mechanikergesellen- prüfung:	14.4.1969
Diplomhauptprüfung:	Abschluß am 21.10.70
Beginn des Medizin- studiums:	WS 70/71 an der Universität München
Vorphysikum:	Abschluß am 22.3.71
Physikum:	Abschluß am 13.4.72
Famulaturen:	Kreiskrankenhaus Starnberg, Institut für Chirurgische Forschung der Uni- versität München und an der I. Uni- versitätsfrauenklinik München. Beginn der Mitarbeit am Institut für Chirurgische Forschung im Oktober 1972

Seit 2. Oktober 1974 verheiratet mit Frau Brigitte, geb. Neff.
Abschluß des Staatsexamens im Juni 1975.

Meine Medizinalassistentenzeit leiste ich am Institut für
Chirurgische Forschung der Universität München und am Kreis-
krankenhaus Starnberg auf der Internen und Chirurgischen Ab-
teilung ab.

